

Aus dem Reichsseruminstitut zu Rotterdam
DIRECTOR: PROF. DR. J. POELS.

Beiträge zur Kenntnis
der
bei gesunden Rindern vorkommenden Trypanosomen.

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

Erlangung der Doctorwürde

DER

HOHEN VETERINÄR-MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT BERN

VORGELEGT VON

PETRUS PHILIPPUS VAN DER POEL,

Adjunkt-Inspektor der bürgerlichen Veterinärdienstes in Niederländisch Ost-Indien.

Von der Fakultät auf den Antrag von Herrn Professor Dr. GUILLEBEAU zum Drucke genehmigt.

BERN, den 7 März 1912.

Der Dekan,
Dr. SCHWINDEMANN.

Es ist mir angenehme Pflicht, dem Director des Reichsserumistitutes, Herrn Prof. Dr. J. POELS, für die Gelegenheit, die er mir geboten hat, im Reichsseruminstitute zu arbeiten und für die Ueberlassung des Themas, meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Herrn Dr. A. VRIJBURG, 's-Gravenhage, der meine Arbeit geleitet hat, danke ich herzlichst für die stets gleiche Bereitwilligkeit und für die mir gewidmete Zeit und Mühe.

Dr. A. THEILER, Pretoria [1] fand bei seinen Untersuchungen im Blut von Rindern, in Süd-Afrika, Trypanosomen, die von Laveran, weil sie von allen bis dahin (1903) bekannten Formen abwichen, Trypanosoma Theileri benannt wurden.

Theiler fand diese Trypanosomen bei der Untersuchung von frischem Blute, in welchem sie sehr lebhafte Bewegungen machten, wobei sie die roten Blutkörperchen beiseite stiessen. Der Parasit bewegte sich ebensowie das Trypanosoma Brucei meistens mit der Geissel nach vorn, jedoch auch oft mit dem entgegengesetzten Ende vorwärts gerichtet. In Blutpräparaten wurden die Bewegungen nach 1 oder 2 Tagen langsamer, wodurch das Blepharoplast und die undulierende Membran besser besichtigt werden konnten.

Zwei Trypanosomenformen konnten beobachtet werden; den Unterschied zwischen beiden bildete die verschiedene Lage des Blepharoplasten, welche in der gewöhnlichen Form in dem hintern Körperteil in ziemlich grosser Entfernung von dem Kern und in der seltener vorkommenden Form dicht beim Kern liegt oder hier mit demselben vereinigt ist.

Die Länge beträgt 20—70 μ., die Breite von 2 bis 6 μ.; die längsten Parasiten erschienen in der am meisten vorkommenden Form, während die seltene Form in der Regel kleiner war.

Obgleich es zweifelhaft sein dürfte, ob diese zwei Formen zu derselben Art gehörten, glaubte Theiler annehmen zu müssen, dass dies der Fall sei, weil bei Impfung mit Blut, welches die seltenere Form enthielt, auf dafür empfindliche Tiere, sich die gewöhnliche Form entwickelte, während ausserdem bei vielen Tieren sich beide Formen zugleicherzeit vorfanden, bisweilen mit noch einer mittelgrosse Form, sodass Theiler die kleinere Form als eine Entwickelungsstufe der gewöhnlicheren Form betrachtet. Nur bei einem Ochsen wurden ausschliesslich die seltenere Formen angetroffen. Beide Formen entwickelten sich nur bei Rindern.

Laveran nennt die grosse häufigere Form Trypanosoma Theileri, und die kleinere seltenere Form Trypanosoma transvaliense.

Die gewöhnliche Form wurde inbezug auf die Morphologie als einen grösseren Typus des Trypanosoma Brucei betrachtet. Der Kern war ziemlich gross, gewöhnlich rund, oval oder spulenförmig, der Blepharoplast sehr deutlich; dort entsprang dass Flagellum, welche die undulierende Membran begrenzte und in einen langen peitschenförmigen Teil endete. Das Protoplasma war fein granuliert. Die Granula färbten sich besonders dann sehr deutlich, wenn das Blut einige Stunden aufbewahrt worden war, bevor man das Präparat machte.

Die seltenere Form war breiter, der Kern grösser und meistens weniger fest als bei der gewöhnlichen Form. Der Körper war meistens gedrungener als bei dem gewöhnlichen Parasiten und zeigte abnorme Formen — rund, oval, eingeschnürt, u. s. w. Der Blepharoplast war sehr deutlich und nahm den Farbstoff leichter auf als irgend ein anderer Teil des Parasiten; Form gewöhnlich rund, aber auch oft länglich oder stäbchenförmig.

Art der Vermehrung.

Die gewöhnliche Form teilt sich ebenso wie Trypanosoma Brucei der Länge nach; die Teilung fängt mit dem Blepharoplasten an, darauf folgt die Geissel; Theiler fand jedoch öfters Formen mit 2 Kernen, einem Blepharoplasten und einem Flagellum. Bei den selteneren Formen war die Längsteilung nicht so deutlich. Der Protoplasmakörper hatte eine länglich-ovale Form, an welcher Vorder- und Hinter-ende schwer zu unterscheiden waren, während in einigen Formen 2 mit einem Kern verbundende Blepharoplasten zu erkennen waren; in einen weitern Stadium war der Kern vergrössert und in die Länge gezogen. Weiter war eine Entwicklungsstufe sichtbar wobei in einer Protoplasma-Masse, getrennt 2 Kerne und 2 Blepharoplasten zugegen waren; in einem noch weiter vorgerückten Stadium begann das Protoplasma sich zu teilen.

Es war schwer zu bestimmen, ob man es bei solchen Vorgängen mit einer Längs- oder mit einer Querteilung zu tun hatte.

Wie Theiler angab, liegt bei der gewöhnlichen Form der

Blepharoplast weit vom Kern, bei der selteneren Form dicht bei oder auf dem Kern.

Dies veranlasste ihm zu der Annahme, dass im Anfang der Vermehrung der Blepharoplast sich vom Ende nach dem Kern hin verschiebe; hierdurch würde auch der polymorphe Charakter der Trypanosomen erklärt werden.

Degenerations-Formen.

Das Trypanosoma war leicht abzuzöten. Erst verlor das Protoplasma die Fähigkeit sich zu färben, dann wurden die Umrisse undeutlich, so dass der Parasit nur noch an dem starkgefärbten Blepharoplasten, am Flagellum und am Kern zij erkennen war; die Farbe des letztern wurde allmählich blasser, und endlich unsichtbar. Blepharoplast und Geissel schienen am meisten Widerstandsfähigkeit zu besitzen und wurden öfters frei zwischen den roten Blutkörperchen angetroffen.

Agglutination.

In frischen sowohl als in gefärbten Blutpräparaten war selten Agglutination sichtbar, (die Laveran und Mesnil bei Trypanosoma Brucei sahen), nur wurden dann und wann zwei Trypanosomen gesehen, welche mit dem Hinterende mit einander verbunden waren; liess man jedoch Trypanosomenhaltiges defibriniertes Blut während einer Nacht stehen, so traten die Trypanosomen an die Oberfläche und legten sich mit den Hinterenden in der Form von Rosetten an einander. Dasselbe sah man, jedoch nur während einigen Stunden, in dem Blute nach Hinzufügung von Serum von einem Kalbe das schon wiederholt mit Trypanosomenhaltigem Blut geimpft worden war.

Lebensfähigkeit der Trypanosomen.

Bei Zimmertemperatur oder in dem Eiskasten blieben die Parasiten in defibriniertem Blut in Reagenz-röhrchen bis zu 7 Tagen am Leben, kürzer jedoch, wenn sie in den Brutkasten gestellt wurden. Die Parasiten schienen in dem Brutkasten zu sterben bald nachdem das Blut lackfarbig geworden war.

In defibriniertem, mit Pferdeserum und physiologischer Kochsalzlösung verdünntem Blut blieben die Trypanosomen ebenso

lange am Leben, wie in unverdünntem Blut. In defibriniertem Blut mit Peptonbouillon blieben sie 48 Stunden am Leben.

Durch Hinzufügung von gewöhnlichem Wasser, von Wasser mit Glycerin, von normaler Salzlösung, welche 5 % Acidum carbolicum enthielt, wurden die Trypanosomen schnell getötet.

Bei 50° C. wurden sie in 24 Stunden getötet. Impfung mit geschwächtem Trypanosomenhaltigen Blut, (sodass nur noch eine geringe Bewegung des Flagellum zu bemerken war) fiel in den 2 gemachten Versuchen negativ aus.

Impfungen.

Einspritzungen mit Trypanosomenhaltigem defibriniertem Blut wurden vorgenommen bei 3 Pferden, 9 Hunden, 6 Schafen, 2 Ziegen, 20 Kaninchen, 15 Meerschweinchen, 5 Ratten und 1 Maus; zur Verwendung kam ausschliesslich Blut von Rindern, welche auf natürliche Weise infiziert worden waren. Das Resultat war immer ein negatives. Bei einem Schafe wurde eine geringe Temperatursteigerung wahrgenomen; es wurden jedoch keine Trypanosomen vorgefunden.

Verbreitungsweise der Krankheit.

Theiler fand die Parasiten in dem Magen von Fliegen (Hippobosca rufipes), welche auf Tieren gesogen hatten, die Trypanosomen im Blut hatten. Er versuchte Rinder dadurch zu infizieren, dass er sie durch infizierte Fliegen stechen liess, wobei die Stelle, wo sie stechen sollten, zuvor gut geschoren worden war, wie dies auch bei den Tieren die zur Infection der Fliegen dienten gemacht wurde. Mehrere Male liess Theiler die Insekten abwechselnd bei einem kranken und bei einem gesunden Tiere saugen; von 4 Experimenten gelangen 2. Die Kontrolletiere in demselben Stall blieben gesund.

Die Hippobosca rufipes kommt in Süd-Afrika häufig vor; weniger die Hippobosca maculata, welche man mehr in Britisch-Indiën antrifft, von wo sie durch Pferde nach Afrika verscheppt wird.

Die Trypanosomen verursachten bei den Tieren kein einziges Krankheitssymptom.

Bei seinem Untersuchungen mit an Rinderpest leidenden

Tieren wurden bei der Sektion auch Trypanosomen gefunden; jedoch konnte keine einzige Spur von einer durch dieselben verursachten krankhaften Abweichung festgestellt werden.

Ein Kalb wurde subkutan mit 50 ccm. und intrajugulär mit 50 ccm. Trypanosomenhaltigem Blut von einem andern Kalbe eingespritzt, wobei am 6ten Tag Trypanosomen im Blut erschienen, welche während 9 Tage darin sichtbar blieben. Das Kalb zeigte kein einziges Krankheitssymptom; die Temperatur stieg bisweilen bis 104° F. = 40° C., was übrigens für Süd-Afrika nichts aussergewöhnliches ist.

Bei einem andern Kalbe, das mit 100 ccm. Trypanosomenhaltigem Blute eines Kalbes eingespritzt worden war, zeigten sich nach 5 Tagen Parasiten im Blut. welche dort 9 Tage sichtbar blieben, - ohne dass irgend eine Krankheitserscheinung zu erkennen war.

Ein Ochs, welcher intrajugulär mit 100 ccm. Trypanosomenhaltigem Blute von einem Kalbe eingespritzt worden war, zeigte nach 14 Tagen Parasiten, welche darin nur 3 Tage sichtbar blieben; am 14ten Tag stieg die Temperatur bis 106.8° F. (41.5° C.)

Empfindlichkeit verschiedener Viehrassen.

Im ganzen wurden 38 Rinder aus verschiedenen Gegenden mit trypanosomenhaltigem Blut geimpft, u. a. Tiere aus Madagaskar und Texas, von denen bei 22 Trypanosomen im Blut nachgewiesen werden konnten.

Unter erfolgreicher Uebertragung wurde nur das Erscheinen oder Nicht-Erscheinen von Trypanosomen im Blut gemeint.

Krankheitssymptome kamen nicht vor.

Empfindlichstes Alter.

Die Trypanosomen fanden sich bei einjährigen und älteren Tieren.

Inkubationszeit.

Die Dauer der Inkubationszeit war grösstenteils von der Anzahl Trypanosomen im eingespritzten Blut abhänging, und betrug im Durchschnitt 4—6 Tage. Impfung in die Jugularis schien die Iukubationszeit nicht zu verkürzen. Bei Injekiion von 50 bis

100 ccm. wurde einigemal eine Zeit von 3 Tagen wahrgenommen, mit 10 ccm. von 10 Tagen und mit 1 ccm. von 18 Tagen. In all diesen Fällen waren zuvor in dem einzuspritzenden Blut Trypanosomen nachgewiesen worden.

Theiler fand jedoch auch, dass das Blut infektiös sein konnte, ohne dass bei mikroskopischer Untersuchung Trypanosomen gefunden worden waren, Es musste in diesen Fällen jedoch mit der Möglichkeit gerechnet werden, dass die Anzahl zu gering war, un um mikroskopisch aufgefunden zu werden. In einem derartigen Fall wurden bei Impfung mit 10 ccm. Blut, nach 20 Tagen, Trypanosomen im Blut des Versuchstieres gefunden.

Anzahl Tage, während deren die Trypanosomen im Blut sichtbar blieben.

Diese Zeit war sehr verschieden und hauptsächlich von der Wilderstandsfähigkeit des Tieres abhängig; die längste Zeit war 13, die kürzeste 1 Tag, der Durchschnitt betrug 9 Tage. Die Quantität des eingespritztes trypanosomenhaltigen Blutes tat nichts zur Sache.

Anzahl Trypanosomen.

Sie waren nie so zahlreich wie das Trypanosoma Brucei bei Hunden oder Trypanosoma Lewisi bei Ratten. Die Anzahl war sehr verschieden, bisweilen wurde 1, in anderen Fällen mitunter 30 in einem Bluttropfen gefunden.

Immunität.

Theiler hatte schon gefunden, dass Injektion mit trypanosomenhaltigem Blut nicht immer das Auftreten von Trypanosomen in dem Blute des infizierten Tieres zur Folge hatte, und ebenso wenig eine Reaktion ohne Trypanosomen.

Dies veranlasste die Frage, ob solche Tiere denn wirklich immun seien und ob Tiere welche eine Trypanosomeninfektion durchgemacht hätten, ein zweites oder drittes Mal mit positivem Resultat geimpft werden könnten.

Durch Versuche gelangte Theiler zu dem Schluss, dass Immunität in hohem Grade bestehe und durch Infektion mit Trypanosomen verursacht werde. Diese immunität schien jedoch ab-

hängig zu sein von der Anzahl eingespritzten Trypanosomen; je grösser die Injektion, je grösser die Wahrscheinlichkeit der Reaktion und des wirklichen Auftretens von Trypanosomen.

M. A. Laveran (2) hat im Jahre 1911 eine Methode zur Identifizierung und Klassifizierung angegeben für Trypanosomen bei Säugetieren.

1. Identifikation des Trypanosoma.

Die Indentifizierung der Trypanosomen ist zunächst gegründet auf ihre morphologischen Eigenschaften; da diese jedoch häufig zur Unterscheidung der Arten ungenügend sind, hat man auch die biologischen Eigenschaften und Speziel die pathogenen oder nichtpathogenen Eigenschaften in Betracht zu ziehen und in einigen Fällen zu besondern Methoden seine Zuflucht zu nehmen.

A. Identifizierung der Trypanosomen nach ihren morphologischen Eigenschaften.

Die Stellung des Flagellum am vorderen Teil des Trypanosoma gewährt u. a. vielfach eine gute differenzielle Merkmal.

Behufs der Vergleichung der Trypanosomen nach ihren morphologischen Eigenschaften, hat Lingard auf systematische Weise eine Serie von Messungen am Trypanosomenkörper angegeben, nämlich:

1o. Abstand vom Mittelpunkt des Zentrosoma bis ans Hinterende des Parasiten.
2o. Abstand von demselben Mittelpunkt bis an den Hinterrand des Kerns.
3o. Länge des Kerns.
4o. Abstand von dem Vorderrand des Kerns bis an das Vorderende des Körpers.
5o. Länge des freien Teils des Flagellum.
6o. Grösste Länge des Parasiten.

Diese Methode würde sehr gut sein, wenn die Trypanosomen sich immer dem Auge auf dieselbe Weise zeigten und immer mit denselben Dimensionen, doch dies ist durchaus nicht der Fall.

Die systematischen Messungen von Trypanosomen nach Lingard können nützliche Andeutungen gewähren, als Mittel zur

Identifizierung von Trypanosomen sind sie unbrauchbar, weil sie zu grossen Irrtümern führen würden.

B. Identifiziernng der Trypanosomen nach ihren biologischen Eigenschaften.

Einige Trypanosomen sind einer bestimmten Tiergattung eigen; Impfungen, welche bei andern, sogar sehr nah verwandten Gattungen vorgenommen wurden, gaben negative Resultate; dies ist u. a. der Fall mit den nichtpathogenen Trypanosomen der kleineren Säugetieren und mit dem grossen Trypanosomen des Rindviehs.

Eine grosse Anzahl Trypanosomen sind pathogen für die meisten Gattungen der Säugetiere, z. B. die der Surra und Nagana; andere sind nur für bestimmte Gattungen pathogen.

Wenn ein Trypanosoma nur auf Tiere derselben Gattung verimpfbar ist, hat man dieses als spezifisch betrachtet, wie gross auch die Ubereinstimmung mit den andern Trypanosomen sein mag. Man muss sich fragen ob dieses nicht eine bestimmte Anpassung eines und desselben Parasiten bei verschiedenen Tiergattungen sei.

Roudsky ist es zuerst gelungen, die Virulenz des Trypanosoma Lewisi der Ratte zu verstärken, und mittels alter Kulturen dieses verstärkten Virus hat er mit Erfolg Serien von Mäusen geimpft.

Dalanoë hat nachgewiesen, dass Impfungen mit Trypanosoma Lewisi direkt von Ratte auf Maus in einer Gewissen Anzahl Fällen gelingen, und dass der Erfolg gross ist, wenn man Mäuse impft mit Kulturen des Trypanosoma Lewisi der Ratte. Allein die von Dalanoë vorgenommenen Serieimpfungen bei der Maus, gaben negative Resultate von der 40 oder 50sten Impfung an, wärend es Roudsky bis zu 60 Impfungen brachte.

Die Untersuchungen sollten den Nachweis liefern, dass bestimmte Trypanosomen, welche jetzt als besondere Arten betrachtet werden, in Wirklichkeit nichts anderes als Varietäten desselben Trypanosomenstammes sind, die jenigen Trypanosomen, welche unter normalen Umständen nur auf Tiere derselben Gattung verimpfbar sind, nach wie vor als besondere Arten zu betrachten.

Der Umstand, ob ein Trypanosoma pathogen ist oder nicht, ist sehr wichtig.

Die Art der pathogenen Wirkung, die dauer der Entwickelung

bei den verschiedenen Tierarten, die Erscheinungen, der Verlauf und die anatomische Veränderingen, gewähren nützliche Andeutungen. Unglücklicherweise zeigen die Krankheits- und pathologischen anatomischen Erscheinungen sehr grosse Uebereinstimmung. Die Verbreitungsweise muss auch in Betracht gezogen werden.

Mehrere afrikanische Trypanosomen-Krankheiten scheinen nur durch die Glossina oder Tsetse übertragen werden zu können, die Surra und die durch Trypanosoma Soudanense verursachten Krankheiten werden auch durch verschiedene stechenden Fliegen verbreitet, jedoch durch andere als die Glossina.

Nach R. Koch muss in hohem Masse der Entwickelung Rechnung getragen werden, welche die Trypanosomen bei den wirbellosen Tieren durchmachen. Es wird wahrscheinlich nicht praktisch sein, ein Trypanosoma allein nach der Art, in welcher es sich bei dem dasselbe verbreitenden Insekt entwickelt, zu identifizieren, umsomehr als diese Entwickelung, noch keineswegs vollkommen bekannt ist, obgleich man in dieser Hinsicht in den letzten Jahren grosse Fortschritte gemacht hat.

C. Besondere Methoden zur Identifizierung der Trypanosomen.

1. Versuch betreffs gegenseitiger Immunität (immunité croisée).

Man untersucht, ob ein Tier, welches gegen ein bestimtes Tryponosoma A Immun geworden ist, gleichfalls gegen ein Trypanosoma B. immun ist, und umgekehrt.

Wenn gegenseitige Immunität besteht, so ist das Virus derselben Art, im entgegensetzten Fall nicht.

A. Laveran und F. Mensil haben über diesen Punkt Versuche angestellt. So fanden sie, dass Trypanosoma Bruceï und Trypanosoma Evansi zwei verschiedene Arten sind; dass das Trypanosoma der Mbori eine Varietät des Trypanosoma Evansi ist; dass die Surra von Nha-Trang der Indischen Surra nicht gleichgestellt werden kann; dass Trypanosoma congolense verschieden ist vom Trypanosoma dimorphon, Trypanosoma pecorum vom Trypanosoma congolense; Trypanosoma hippicum vom Trypanosoma Evansi, dass das Trypanosoma von Mauritius der Surraparasit von Indien gleigestellt werden kann.

Ziegen, Schafe und Rinder besitzen, wenn sie in günstigen Verhältnissen leben, den Trypanosomenkrankheiten gegenüber eine grosse Widerstandsfähigkeit, und die Individuen die nach dem ersten Anfall gewöhnlich immun geworden sind, sind die ausgesuchtesten Tiere für die Versuche auf gegenseitige Immunitet.

2. Sero-diagnostische Methode.

Im Jahre 1906 sind von Laveran und Mesnil desbezügliche Versuche angestellt worden.

Das Serum eines Tieres, welches einem bestimmten Trypanosoma gegenüber immun geworden ist, ist aktiv wenn man es in genügënder Menge gebraucht mit Blut, das dieses Trypanosoma enthält, inaktiv, wenn man denselben Versuch mit andern Trypanosomen macht; das Serum erhält dann oft in genügenden Masse spezifische Eigenschaften, weiche zur Identifizierung von Trypanosomen benutzt werden können.

Das Serum eines Tieres, welches einem Trypanosoma gegenüber immun geworden ist, kann während längerer Zeit seine Wirksamkeit bewahren, sogar bis 17 Monate und 2½ Jahr.

II. Einteilung der Trypanosomen bei den Säugetieren.

Mit den meisten Autoren teilen Laveran und Mesnil die Trypanosen in 2 grossen Gruppen ein, nämlich 1° nichtpathogen, 2° pathogene.

1°. Nicht-pathogene Trypanosomen.

Die nicht-pathogenen Trypanosomen der Säugetieren werden wieder eingeteilt in:

a. Nicht-pathogene Trypanosomen der kleinern Säugetiere.

b. Die grossen Trypanosomen der Rinder.

Diese Trypanosomen sind fast immer einer bestimten Tiergattung oder einiger sehr nahe verwandten Gattungen eigen.

Nach einer aktiven Vermehrungsperiode kommen die Trypanosomen sehr sparsam im Blute vor, und bleiben darin wärend längerer Zeit latent.

Genesene Tiere werdeu immun.

Die Trypanosomen vermehren sich leicht in für sie geeigneten Kulturboden, sodass die Kultur meistens die leichteste Weise ist zur Feststellung ihrer Anwesenheit.

a. Nicht-pathogene Trypanosomen der kleinern Säugetiere.

Die meisten sind vom Typus des Trypanosoma Lewisi und ihre vornehmste spezifische Eigenschaft ist, dass sie nicht von einer Tierart auf die andere zu verimpfen sind.

Je nach den Tieren, bei welchen sie vorkommen, werden sie eingeteilt in:

1. Trypanosomen der Nagetiere: die zahlreichsten;
2. Trypanosomen der Handflügler;
3. Trypanosomen der Insektenfresser,
4. Trypanosomen der Zahnlosen;
5. Trypanosomen der Fleischfresser.

b. Grosse nicht-pathogene Trypanosomen der Rinder.

1. Trypanosoma Theileri Laveran. Stark verbreitet über die Erdkugel. Die grössern Formen sind 60 bis 70 µ. lang und 4 bis 5 micra breit. Das freie Ende des Flagellum ist lang.
2. Trypanosoma Transvaliense.
3. Trypanosoma Franki.
   Die Hippoboscen sind die bekanntesten Verbreiter.
4. Trypanosoma ingens Bruce bei Rindern, Antilopen in der Ouganda.

Die grössern Formen erreichen eine Länge von 100 bis 122 micra und eine Breite von 7 bis 10 micra.

Das freie Ende des Flagellum ist nicht lang.

STOCKMAN, London(3) fand Trypanosomen beim englischen Vieh.

10 Stück Stammbuchvieh, welche nach Süd-Afrika versandt werden sollten, wurden geimpft um sie immun zu machen gegen Piroplasmose.

Der gebrauchte Piroplasmosenstamm rührte von einer Kuh her, welche an einem gewöhnlichen Anfall von Haemoglobinurie litt. Nach der Impfung wiesen 9 von den 10 Impflingen in ihren roten Blutkörperchen Piroplasmen auf, aber die Impfung hatte keinen einzigen Fall von akuter Haemoglobinurie zur Folge. Die Reaktion

bestand in ein paar Fällen in Fieber und währte länger als bei Vieh, welches einen leichten Anfall von Haemoglobinurie durchmacht, während sie an Ernährungszustand mehr zurückgingen als solches der Fall ist bei Tieren, welche einen derartigen leichten Anfall durchmachen.

Trypanosomen wurden bei 6 von den 10 Tieren in Blutpräparaten gefunden; frühestens 9 Tage nach der Impfung und 3 Tage später zeigten sich die Reaktionserscheinungen.

Wärend 8 Tage wurden die Trypanosomen im Blute dieser Tiere angetroffen, doch nie mehr als 3 bis 8 in einem Blutpräparate, wärend sie am 15. und 16. Tag am zahlreichsten waren, was nicht mit der Periode der höchsten Temperaturreaktion zusammenfiel. Bei diesem Tiere war die Reaktion auch am grössten, eine Folge entweder des Vorkommens einer grössern Anzahl Trypanosomen, oder bloss ihrer Anwesenheit.

Bei den 5 andern Tieren wurden am 15. Tag die ersten Trypanosomen in den Blutpräparaten gefunden und nur wärend 1 oder 2 Tage. Da sie sehr sparsam vorkamen, ist es sehr gut möglich dass sie vor dem 15. Tage gefunden worden wären, wenn die Untersuchung sich auf mehrere Blutpräparaten erstreckt hätte.

In frischem Blut waren die Parasiten sehr beweglich, doch kamen sie nur verhältnismässig langsam im Gesichtsfelde vorwärts. Der grösste Teil dieser Trypanosomen hatte eine Länge von 50 micra und eine Breite von 2.5 micra (ausser der undulierenden Membran) am dicksten Teil.

Der hintere Teil war zugespitzt und der vordere Teil endete in ein Flagellum. Der Nucleus lag ungefähr in der Mitte und das Centrosoma etwas weiter von dem Nucleus als vom Hinterende des Parasiten entfernt. Die undulierende Membran war sehr deutlich und wies drei oder vier gut sichtbare Windungen auf. Das Cytoplasma zeigte verschiedene Körner etwas ungleichmässig verteilt in den vorderen 2 Dritteilen des Körpers.

Kultivierung war bisjetzt unmöglich, sodass sie in dieser Hinsicht von den japanischen und amerikanischen Trypanosomen abwichen, welche leicht zu kultivieren waren. Morphologisch stimmten sie stark überein mit Trypanosoma Theileri, allein die Identität ist noch nicht ermittelt worden.

Es ist sehr unwahrscheinlich, dass diese englischen Trypanosomen in hohem Grade pathogen sein sollten, weil sie dann wohl schon früher entdeckt worden wären.

Es scheint wahrscheinlich, dass einige blutsaugende englische Fliegen als Trypanosomenträger, auftreten, sowie sie auch Träger der gefürchteten tropischen Parasiten sein können, und dadurch einige der hierdurch verursachten Krankheiten übertragen, wenn von denselben befallene Tiere eingeführt und nicht genau beobachtet werden.

Es ist allgemein bekannt dass Trypanosen vielfach chronisch verlaufen und dass ein infiziertes Tier als Träger des Ansteckungsstoffes eine fortwährende Gefahr bildet.

Es ist bekannt, dass die Surra in Australien durch infizierte indische Kamele importiert worden ist.

HOWARD CRAWLEY ([4]) teilt uns die Resultate seiner Forschungen mit über das Vorkommen von Trypanosomen bei amerikanischem Vieh.

Kossel und Weber fanden (1900) in Finland bei einer Kuh welche an Haemoglobinurie gestorben war, im Blute, ausser Piroplasma bigeminum auch Trypanosomen bedeutend kleiner als Trypanosoma Evansi.

Schaudinn gelangte nach Vergleichung der Morphologie dieses Trypanosoma mit der des Piroplasma bigeminum zu dem Schlusse, das dieses Trypanosoma wahrscheinlich eine Uebergangsform im Leben des Piroplasma bigeminum sei, ebenso wie dieses im Leben der Trypanosomen.

Kossel und Weber fanden in dem Darminhalt von Zecken, entnommen von Tieren, welche an Texasfieber litten, dieselben Uebergangsformen der Trypanosomen wie in dem Blute der obengenannten Kühen.

Auch Bowhill und Le Doux (1904) haben Flagellatformen von Piroplasmose gefunden, welche von ihnen Piroplasma bovis benannt wurde. Sie schrieben: „der Parasit besteht aus einem verbreiterten länglichen Teile, der in ein feines Flagellum übergeht, worauf bei genauer Besichtigung 2 kleine kugelförmige Auswüchse sichtbar sind.

Bowhill (1905) fand in dem Blut von Pferden Parasiten, welche bestanden aus: „einem feinem birnförmigen Kopf mit einem deutlich begrenzten rotgefärbten Karyosoma, und einem

langen Flagellum welche in einen kugelförmigen Auswuches endet".

Diese Gebilde lagen entweder ganz in oder halb in und halb ausser einem roten Blutkörperchen.

Die Länge des Flaggellum war 3.5 micra oder etwas mehr. Aus den beigefügten Figuren geht jedoch hervor, dass sie es nicht mit Flagellen zu tun hatten, sondern mit Auswüchsen, die Pseudopodiën ähnlich sahen, wie dies von Minchin (1909) untersucht wurde, welcher darüber schreibt:

„Meines Erachtens muss das Flagellum als ein Pseudopodium betrachtet werden, mittels dessen der Parasit ein Corpuscule freimachen kann und wodurch es wieder, in freiem Zustande in ein anderes Corpuscule eindringen kan.

Solange jedoch dieses Flagellum noch nicht in lebendem Zustande beobachtet worden ist, kann kein endgültiges Urteil abgegeben werden".

Miyajima (1907) schrieb, dass in Kulturen von Piroplasmen welche in gewöhnlicher Bouillon von Blut von japanischen Vieh gemacht worden waren, sich bald Trypanosomen entwickelten.

Die Entwicklung ging folgendermassen vor sich:

1ter Tag: keine beweglichen Gebilde zu sehen.

2ter Tag: eine Anzahl mobile Zellen sichtbar in der obersten Schicht des Niederschlags, der makroskopisch als weissliche Tüpfel aussieht.

3ter Tag: vereinzelte mobile Gebilde sichtbar.

4ter Tag: mobile Gebilde sichtbar, typische Trypanosomen, welche sich rasch vervielfältigen und in 10 bis 14 Tagen ihr Maximum erreichen.

Bei Zimmertemperatur blieben diese Trypanosomen in Kulturen 45 Tage beweglich. Bei Temperaturen zwischen 10° und 20° C. blieben sie drei Monate am Leben. Verimpfungen auf einen neuen Nährboden (Subkulturen) gelangen bald.

Diese Trypanosomen betrachtete Miyajima als aus den Piroplasmen entstehend, und zwar aus folgenden Gründen:

Zunächst waren im Blute von 200 Stück untersuchtem Vieh keine Trypanosomen gefunden worden und ebensowenig hatte

man Trypanosomen im Blute von japanischem Vieh angetroffen.

Bei der Untersuchung des Blutes von 21 Stück inländischen Vieh fand er bei 9 Piroplasmose, bei 12 dagegen nicht.

Von dem Blute von all diesen 21 Tieren wurden Kulturen angefertigt; in 7 derselben, und zwar in denen wobei Piroplasmen konstatiert worden waren, entwickelten sich Trypanosomen, die 14 andern blieben negativ.

Darauf machte er den folgenden Versuch:
3 Kälber wurden ausgesucht, in deren Blut sich keine Parasiten fanden. Diese wurden mit einer Kultur eingespritzt, welche eine Fülle von beweglichen Trypanosomen enthielt, wärend sie später freigehalten wurden von Zecken. Ein Tier blieb befreit, die 2 andern erkrankten, wie sich bei mikroskopischer und kultureller Untersuchung herausstelle. Er schreibt: „In einen Falle wies 8 Tage nach der Impfung das Blut des empfindlichen Tieres ein Wachstum von Flagellaten in der Kultur auf, wärend 17 Tage später nur bei miskroskopischer Untersuchung die intrazellularen Parasiten in demselben Tiere sichtbar waren.

Die Quantität des Blutes in der Kultur machte keinen Unterschied: 1 ccM. oder einen Löffel voll gewährte dasselbe Resultat,

Miyajima gelangte zum nachfolgenden Schluss: 1. Eine Varität von Haemocytozoa, bekannt als Piroplasma parvum kann leicht ausserhalb des Tierkörpes kultivirt werden.
2. Die Parasiten entwickeln sich in Blutbouillon und nehmen endlich die Form von typischen Trypanosomen an. Dieses Trypanosoma kann nicht im Blute lebendiger Tiere gefunden werden.
3. Ein einfaches Gemisch von Blut und Bouillon ist das beste Kulturmedium für Piroplasma parvum und Trypanosoma Lewisi."

Miyajimas Untersuchung wurde von HOWARD CRAWLEY in der Zoologischen Abteilung des Ackerbaudepartements der Vereinigten Staaten wiederholt, wobei er folgendes feststellte:

In Rinderblut kultiviert in gewöhnlicher Rinder-Bouillon, entwickelten sich Trypanosomen in 2 bis 4 Tagen, je nach der Temperatur. Sie erschienen auch in Kulturen von Rinderblut in Schafsbouillon, sowohl sauer wie alkalisch, und weiter auch in jeder untersuchten Kuh.

Das Verfahren war folgendes:
Mit einer Spritze wurde Jugularisblut einer Kuh in Flaschen von

100 ccm. Inhalt getan, wobei jedesmal ungefähr 30 bis 50 ccm. genommen wurde. In jeder Flasche waren 6 bis 8 facettierte Perlen von rohem Glas. Das schütteln der Flasche wärend einiger Minuten genügte um das Fibrin als eine feste Masse um die Kugeln zu sammeln Alle möglichen Vorkehrungen waren getroffen worden zur Verhütung von Verunreinigung. Das Blut wurde aus den Flaschen gesogen und in die Bouillonröhre getan mittels Clasröhren mit Gummizapfen, welche zuvor durch Kochen wärend 5 bis 10 Minuten sterilisiert worden waren. Um zu verhindern, dass durch die warmen Röhren einige Parasiten getötet würden, wurde die zuerst gefüllte Röhre wieder in die Flasche entleert.

Gewöhnlich erschienen die Trypanosomen am dritten Tag; in einem Falle jedoch, bei hoher Zimmertemperatur, 80^0 bis 90^0 F., wurden sie nach 40 Minuten sichtbar.

Nach einigen Tagen ist es nicht nötig ihr Vorkommen nachzuweisen, da sie sich als kleine Kolonien an der Oberfläche des Blutes zeigen in der Form von kleinen, weissen Schüsselchen mit einem Durchschmitt von 3 bis 4 millimeter, welche scharf begrenzt sind und die Bouillon nicht trüben.

Das Verhältnis des Blutes zur Bouillon tut nichts zur Sache, meinte Crawley.

Bei sieben untersuchten Kühen waren im Blute Flagellate sichtbar. Von diesem war die erste Kuh — geboren in der Experiment-Station des Bureau of Animal Industry in Bethesda — 2 × eingespritzt mit Blut, welches Piroplasma bigeminum enthielt, wovon somit angenommen wurde, dass dieses Vieh auch Trypanosomen im Blutt hatte.

Das Vieh des nördlichen Teils von den Vereinigten Staaten, ausserhalb der Texasfiebergegend ist frei von Piroplasma. Darum wurden 4 Tiere aus der nördlichen Texasfieberfreien Gegend genommen und Kulturen aus ihrem Blute gemacht; Trypanosomen erschienen immer.

Miyajima gewann in Kulturen aus Blut von Tieren, worin Piroplasmen vorkamen, Trypanosomen; Crawley dagegen fand, dass Trypanosomen unabhängig von dem Vorkommen von Piroplasma im Blute erscheinen.

Die erste Frage welche sich darbietet ist, ob Trypanosomen welchen in Kulturen auftreten, aus schon existierenden Trypanosomen entstehen oder aus davon ganz unterschiedenen Elementen.

Das Blut von amerikanischem Vieh, krank oder gesund, ist seit Jahren untersucht worden, und mit einer einzigen Ausnahme (Bowhill 1909) hat man nie Trypanosomen gefunden, sodass mit Bestimmtheit angenomen werden darf, dass es keine gab.

Aber die unmittelbarste Andeutung, dass sie in den Kulturen aus einer unbekannten Form entstehen ist der Umstand, dass wir anfangs keine typischen Trypanosomen finden oder sogar keine Flagellate, sondern runde oder ovale Körperchen, welche einigermassen den weissen Blutkörperchen ähnlich sehen.

Crawley fand in jungen Kulturen Häufchen, welche aus fest aneinanderliegenden, anscheinend runden oder ovalen, bisweilen durch Seitendruk vielförmig gestalteten Zellen bestehen. Sie färben sich blau in Whites Färbstoff und jedes zeigt einen Kinetonucleus aber keinen Trophonucleus. Die Häufchen sind an Grösse sehr verschieden, einige enthielten 3 oder 4 von jenen Organismen, andere einige Hunderte.

In der Regel sind diese kleinen Körperchen typische Fagellate, morphologisch Crithidea und kann man hier sprechen von Crithidea stadium. Daraus erfolgt die Entwickelung zu einer langen bandförmigen Zelle mit scharf zugespitztem Hinterende (ohne das Flagellum 28 μ lang). Bei Färbuug zeigt das Cytoplasma sich blau, der Kinetonucleus ist ziemlich scharf, wärend der Trophonucleus als eine blassrötliche Vacuole erscheint und sehr arm ist an Nucleinsäure. Das Flagellum ist deutlich, aber eine undulierende Membran ist in gefärbten Präparaten nicht nachweisbar.

In jungen Kulturen kommen, ausser Crithidia-Formen auch monodine Formen vor welche beim Altern der Kuluren in grösserer Anzahl vorkommen, jedooh nie mehr als ein geringes Prozent der anwesenden Trypanosomen bilden.

Crawley fand in den Trypanosomen einen ziemlich grossen Trophonucleus mit grossen Chromatinekörnern in demselben. Der Kinetonucleus ist gewöhnlich langgezogen und färbt sich dunkelgranat. Beide Nuclei liegen meistens dicht beisammen, die undulierende Membran ist gut sichtbar.

Diese Parasiten treten gewöhnlich in 2 Formen auf: bandförmig und keulenförmig. Die Ursache davon ist unbekannt.

Die länglich bandförmigen kommen mehr vor als die andern; die Keulenform macht mehr den Eindruck einer degenerierten oder Involutionsform; obgleich dieses kaum der Fall sein kann,

da sie ebenso bald in den Kulturen auftreten als die länglichen und nie irgend eine Regeneration in der Färbung zeigen.

Die Länge der zwei letztgenannten Formen ist durchschnittlich 60 μ. Im Degenarationsfälle war das Hinterende sehr lang gezogen und bisweilen mit einem Flagellum versehen.

Teilung fand statt durch gleichmässige Trennung in der Länge.

Aus dem Obigen würde hervorgehen, dass die Trypanosomen in den Kulturen nicht aus existierenden oder früher vorkommenden Trypanosomen entstehen, sodern aus grössern oder kleinern Haufen runder oder ovaler Zellen, die ihrerseits wieder von einem unbekannten Gebilde herrühren.

Obengenannte Massen von runden oder ovalen Körperchen können nicht mit Aglutinationsrosetten verwechselt werden, da diese eine strahlenförmige Lagerung aufweisen und die Trypanosomenmassen nicht.

Die Trypanosomen bewegen sich sehr schnell vor- nnd rückwärts oder nach links und rechts durch heftige Bewegung des Flagellum oder Zusamenziehungen des Körpers.

Es darf als feststehend angenommen werden, dass obenbeschriebenes Trypanosoma ein gewöhnlicher Parasit des gesunden amerikanischen Viehs ist. Die morphologische Eigentümlichkeit besteht darin, dass der Kinetonucleus und der Traphonucleus dicht beisammen liegen. Dies fand sich auch bei dem Trypanosoma transvaliense einer Vareität des Trypanosoma Theileri und den von Miyajima bei japanischem Vieh gefundenen Trypanosomen.

Wenn dem so ist, so hat Miyajima in seiner Voraussetzung nach welcher dieses Trypanosoma eine Ubergangsform des Piroplasma sein sollte, geirrt.

Die Tatsache, dass die Trypanosomen in dem Blute gesunden Viehes vorkommen ist zumal von grössten Interesse, und sie widerspricht der Voraussetzung dass sie eine Ubergangsstufe zu den Haemosporidien bilden sollten.

Dem obenbeschriebenen Trypanosoma hat man den Namen Trypanosoma americanum gegeben.

Nach Ansicht von Dr. DOFLEIN(5) stehen die Trypanosomen nicht in einem ähnlichen Verhältnis zu den Stechfliegen wie die Malariaparasiten.

Auf Grund der Erfahrung, dass es leicht gelingt, die Trypanosomen umzuzüchten, sie durch künstliche Kultur und Verimpfungen in Organismen zu verwandlen, die vollkommen den zur Gruppe Herpetomonas gehörigen harmlosen Darmparasiten der Insekten gleichen, und umgekehrt durch Kultur Herpetomonaden in Trypanosomen umzuwandeln, vertritt er den Standpunkt, dass die Trypanosoma durch allmählige Anpassung an das ihnen beim Saugakt dargebotene Wirbeltierblut zu Blutschmarotzern geworden sind und noch jederzeit werden können. Daher erkläre sich auch, dass nicht nur die Tsetsefliege, sondern auch andere Blutsaüger die Trypanosomen übertragen können. Diese Verhältnisse seien besonders wichtig, da sie die Entstehung neuer pathogener Trypanosomenstämme gewissermassen möglich erscheinen lassen. Sie zeigen auch, wie eng auf dem Gebiete der Forschung Zoologie und Medizin verknüpft sind.

Schwellengrebel (6) konnte bei Trypanosoma Brucei, gambiense und equiperdum mit intensiver Giemsa-Färbung, mit Eisenhämatoxylin, Toluidinblau den von Robertson beschriebenen Achsénfaden darstellen. Er beginnt mit einer nicht färbbaren Partie, durchzieht den Kern und erstrekt sich bis zum anderen Ende der Zelle. Er zeigt zuweilen Verdickungen, von denen Fädchen ausgehen. An dem im Kern liegenden Teile des Achsenfadens bilden sich Körnchen, die sich sehr stark rot färben. Diese Körnchen finden sich auch ausserhalb des Kernes und werden als Chromidin (somit nucleären Ursprungs) gedentet.

Lingard (7) hatt folgende Trypanosomen bei Englisch-indischen Rindern gefunden.

a. Trypanosoma Hymalayanum nennt Lingard ein den Trypanosoma Theileri ausserordentlich ähnliches, sehr grosses Trypanosoma. Er lässt den Schluss offen, ob es sich um eine Varietät des Trypanosoma Theileri händeln könne.

b. Wärend Trypanosoma hymalayanum nur im Gebirge gefunden wurde, beobachtete Lingard eine recht polymorphe Art, die er als Trypanosoma indicum bezetchnete. Im Milzparen-

chym der betreffenden Rinder fand er kleine, von einer dünnen Membran umgebenen Körperchen, die im Innern einen deutlichen Trypanosomen zu enthalten schienen. (Oöcysten?)

c. Trypanosoma muktesari, ähnlich den Trypanosoma Theileri, ist kleiner als letzterer und besitzt nur eine sehr kurze Geissel.

Stolowsky (8) fand bei Naganakranken Rindern in der Station Mahenge (D. O. A.) neben den gewöhnlichen Formen des Trypanosoma Brucëi auch solche, die sich durch ihre ungewöhnliche Grösse — dreimal so grosz und entsprechend dicker — auszeichneten, also Trypanosoma Theileri. Das Vorkommen von Trypanosoma Theileri wurde vorher schon von Panse in D. O. A. nachgewiesen.

Die Rinder zeigten sonts die symptone der Tsetsekrankheit an der sie auch verendeten. Die Fälle zeigen, dass die Trypanosoma Theileri als zufälliger Nebenbefund festgestellt werden können, ohne selbst schädigungen hervorzurufen.

K. J. Wrublewski (9) hat zu den schon bekannten Trypanosoma Theileri ein neues Trypanosoma bei dem in Littauen im Walde von Bielowesch wild lebenden Wisent entdeckt.

Die nach Giemsa gefärbten Präparaten wiesen eine genügende Anzahl wohlerhaltener Trypanosomen auf. Die Länge schwänkt zwischen 30 und 50 μ, wodurch ihnen eine Mittelstellung zugewiesen wird zwischen den kleineren pathogenen Tryapanosomen (Brucei, Evansi, Duttoni, Bougetti etc.) und den grossen wie Trypanosoma Theileri und Lingardi (Indicum).

Morphologisches: An das auffallend langgezogene Stumpf abgerundete hintere Leibesende schliesst sich eine gegen die Mitte hin bedeutend breiter werdende Partie, welche bei einzelnen Individuen einer fast runden Erweiterung gleicht. In diesem Mittelteil befindet sich der Kern und in dessen unmittelbarer Nähe- aber in der Richtung zum Geisselende- das Centrosoma in Gestalt

eines quergelagerten, an den Enden schwach abgerundeten Stäbchens. Noch etwas weiter nach vorn beginnt das Flaggellum mit einer kolbenförmigen Anschwellung und geht in einen feinen, nach Giemsa lebhaft rot gefärbten Faden über, der etwa bis zur Hälfte seiner Länge mit dem Trypanosomenleibe duch eine zarte, schwach färbbare undulierende Membran verbunden ist. Eine Besonderheit des Flagellums besteht ferner darin, dass es an ihrem freien Ende wiederum eine Verbreitung aufweist, welches indes nicht bei allen Individuen zu erkennen ist, vornehmlich nicht immer bei den kleineren Exemplaren. Diese Verbreitung ist keine symmetrische, sondern befindet sich nur an einer Seite des Geiselendes und hat die Form eines Kolbens oder Blattes. Um den Kern herum sieht man Anhäufungen dunkelgefärbter Granula. Einzelne stärker gefärbte Teilchen sind über den gazen Trypanosomenleib, sowohl den vorderen als auch den hinteren Abschnitt zerstreut. Dazwischen finden sich regellos eingesprengt, (freilich nicht bei allen Exemplaren) kleine, runde, scharf umschriebene vakuolenartige Gebilde, von denen zunächst unentschieden bleiben musz, ob sie etwas für diesen Trypanosomenart kennzeichnendes darstellen, oder eventuell nur als Artefakte zu betrachten sind. Andere morphologische Details müssen erst noch durch weitere Untersuchungen aufgeklärt werden.

Die soeben beschriebene Wuchsform ist augenscheinlich diejenige der erwachsenen Individuen, welche sich in den Präparaten sowohl isoliert als auch zu grossen Haufen vorfinden. Ausserdem werden aber auch andere, offenbar einem Jugendstadium angehörende rundliche Formen angetroffen, von geringen Dimensionen mit und ohne Geissel. Die Teilung der Trypanosomen geht augenscheinlich auf verschiedene Weisen vor sich, denn neben der Längsteilung in zwei Individuen, wurden in den Präparaten auch Teilungsgebilde gefunden, in denen der Kern in mehrere Stücke zerfällt.

In lebenden Zustand zeigten die Trypanosomen eine äussert energische Vorwärtsbewegung mit der Geissel voran. Im hängenden Tropfen laufen sie mit ausserordentlicher Geschwindigkeit durch das Gesichtsfefd, die roten Blutkörperchen auf ihrem Wege heftig auseinanderschleuderend. Im Allgemeinen ist die Bewegung eine schraubenförmige, was besonders deutlich zu erkennen ist, wenn irgend welche fremde Partikel ihrem Körper anhaften. Werden sie durch irgend ein Hindernis auf ihrem Wege aufgehalten, so führt

der vordere mit Geissel und Membran ausgestattete Körperabschnitt besondere starke Biegungen aus, während die Bewegung des freien Geisselteiles bald einen peitschenden, bald einen kramphaft vibrierenden Charakter trägt.

Ohne die Frage entscheiden zu wollen, glaubt Wrublewski doch nach Vergleichung des von ihm gefundenen Trypanosoma mit den Uebrigen bisher beschriebenen Arten annehmen zu müssen, dass dasselbe eine besondere selbständige Art darstellt. Ob diese Trypanosoma für das Wisent pathogen ist oder nicht, kann vorderhand noch dahingestellt werden.

MARTINI (10) hat in Manilla Untersuchungen angestellt über die Entwicklung von einem Piroplasma und Trypanosoma in Rindern in künstliche Kulturen.

Er fand bei der Untersuchung des Blutes eines Kalbes in Manilla Piroplasmen und versuchte nach der Methode von Miyajima, sie in künstlichen Nährböden zu kultivieren. Dieser Autor hatte bekanntlich die Entwicklung von Trypanosomen aus Piroplasmen in einem Gemisch von Bouillon und Rinderblut beschrieben. (Philipinne Journal of Science. Serie B. 1907).

Martini fügte je zwei ccm. des defibrinierten, Piroplasmen enthaltenden Blutes des Kalbes zu 10 ccm. Bouillon und sah nach frühestens 33 Stunden bei 26° C. bis 27° C. Trypanosomen in manchen der Kulturröhrchen. Diese Trypanosomen waren ungefähr von der Grösse des Trypanosoma Lewisi. Manche Exemplare, inklusive der Flagellen, hatten eine Länge von anderthalb bis drei μ (Durchmesser eines Rindererythrocyten); andere waren 6 bis 7 Rindererythrocyten-Durchmesser lang. Das Flagellum hatte am vordern Ende eine knopfartige Anschwellung. Der Blepharoplast lag für gewöhnlich vor dem Nukleus. Die Piroplasmen blieben in den Kulturröhren bis zum fünften Tage augenscheinlich in unveränderter Zahl vorhanden, wärend indessen ein üppiges Wachstum der Trypanosomen unter Bildung von grossen Rosetten stattfand. Uebergangsformen zwischen Piroplasmen und Trypanosomen in den Kulturen wurden aber trotz stündlicher Untersuchung nicht gesehen.

Das Blut des Kalbes wurde dann sorgfältig auf Trypanosomen hin untersucht, aber mit negativem Ergebniss.

Der dort vorkommende Affe, Cynamalgus Philoppinensis, blieb nach subkutaner Injektion von 30 ccm. Blut des Kalbes gesund und Trypanosomen wurde in seinem Blute nicht gefunden.

Inokulation von Affen mit Kulturen, welche zahlreiche Trypanosomen enthielten, waren resultatlos; die Affen wurden nicht krank, und Trypanosomen wurden in ihrem Blute nicht gefunden. Die in Manilla vorkommenden Affen sind sehr empfindlich gegen Surra: das Trypanosoma der Kulturen kann daher das Trypanosoma Evansi nicht sein. Die beiden Trypanosomenarten sind auch morphologisch verschieden. Ein weiterer Unterschied besteht in der Tatsache, dass es dem Verfasser nicht gelang, das Trypanosoma Evansi zu kultivieren.

Prof. Dr. G. FRANK ([11]) hat Trypanosomen bei einem in Stein-Wingert (Westerwald, Regierungsbezirk Wiesbaden) verendeten Rinde gefunden.

Der Medizinaluntersuchungsstelle der Kgl. Regierung in Wiesbaden wird Material von einem Ochsen zugesandt, zur Untersuchung auf Milzbrand und auf Rauschbrand.

Zur Untersuchung kamen u. a. vier Ausstrichpräparaten auf Objektträgern die von dem blutig infiltrierten Bindegewebe, bei der Obduktion angelegt worden waren.

Die Sektion hatte ergeben:
Zahlreiche Blutige Herde in der Unterhaut, Muskulatur und in allen Organen, besonders im Herzen. Ausserdem blutige Darmentzündung und leichten Milztumor. Die Verarbeitung des Untersuchungsmaterial wurde mit der mikroskopischen Untersuchung des blutig infiltrierten Bindegewebes auf Rauschbrandbazillen begonnen. In dem zuerst untersuchten hohlen objektträger von dem blutigen Bindegewebssaft wurden nebem zahlreichen Bakterien der verschiedensten Form (Fäulnisbazillen) zahlreiche Trypanosomen gefunden; solche Bazillen dagegen, die der Form und Färbbarkeit nach den Milzbrand oder den Rauschbrandbazillen glichen, wurden vermisst.

Trotz den vorgerückten Fäulnis des ausgelaufenen Gewebs-

saftes waren die Trypanosomen noch sehr beweglich, also lebend.

Auch am folgenden Tage wurden in dem aufbewahrten Gewebssaft und auch in dem am vorherigen Tage angelegten hohlen Objectträger bewegliche Trypanosomen beobachtet; jedoch waren die Bewegungen derselben weniger lebhaft als am Tage vorher und die Zahl der beweglichen war geringer als die der Unbeweglichen. Letztere erschienen bei der Untersuchung in hohlen Objectträgern breiter, wie aufgequollen. Am nächstfolgenden Tage wurden beweglichen Trypanosomen nicht mehr gefunden; an deren Stelle fanden sich aufgequollene Massen, deren Umrisse die allgemeine Form der Trypanosomen wiedergaben.

In den bei der Obduction angelegten Ausstrichen wurden gleichfalls Trypanosomen gefunden, Milzbrand- oder Rauschbrand-bazillen dagegen vermisst. Auch die Kulturversuche auf beide Bakterienarten hatten ein negatives Ergebnis. Ein Meerschweinchen, das subkutan, wie üblich, mit den blutig infiltrierten Bindegewebe geimpft war, zeigte am folgenden Tage keine Anschwellung, fühlte sich aber kalt an; am Morgen des zweiten Tages wurde es tot aufgefunden. Trypanosomen, Milz- oder Rauschbrandbazillen wurden in Flüssigkeiten oder Blut nicht gefunden. Das Tier war einer Intoxikation mit Fäulnisgiften, nicht einer Infektion mit Krankheitseregern erlegen.

Auf Schnittpräparaten des blutig infiltrierten Bindegewebes wurden Trypanosomen im Blute nachgewiesen, welche sich hauptsächlich an einzelnen Stellen und in Haufen zusammenliegend fanden, wärend andere Stellen nur wenige, die meisten gar keine Trypanosomen aufwiesen. In den Haufen war die Zahl der beieinanderliegenden Trypanosomen sehr grosz.

Auf Grund dieses Befundes, des positiven Nachweises von Trypanosomen und des negativen der Milzbrand- und Rauschbrand-bazillen, nahm Frank an, dass es sich bei dem verendeten Rinde um eine Infektien mit Trypanosomen gehandelt habe.

Die Herren Geh. Ober. Med. Rat Prof. Dr. GAFFKY und Geh. Med. Rat Prof. Dr. FROSCH, haben den Befund bestätigt und das Trynanosoma als eine neue von der bisher bekannten verschiedene Art bestimmt.

Von P. FROSCH (12) wurden am Hygienischen Institut der

Tierärztlichen Hochschule in Berlin von Frank geschicktes Material untersucht, welches bestand aus:

1. blutig infiltriertem Bindegewebe in alkohol absolutum gehärtet,
2. drie ungefärbten Deckgläschen,
3. einem nach Giemsa gefärbten Deckglaspräparat,
4. einem gefärbten Schnittpräparat von blutig infiltrierte Bindegewebe.

In 3 und 4 wurden sehr viele Trypanasomen angetroffen, 1 und 2 wurden zu Präparaten für die photographische Wiedergabe verarbeitet. Die Photogramme liessen die algemeine Kennzeichen der Trypanosomen und folgende Besonderheiten der Rindertrypanosomen erkennen.

a. Das Blepharoplasten tragende Hinterende ist bei allen Individuen deutlich spitz ausgezogen und mehrfrach geisselartig verlängert.

b. Der Blepharoplast der Rindertrypanosomen besitzt eine runde kugliche Form im Gegensatz zu dem Rattentrypanosoma, der meistens mehr stäbchenförmig, elliptisch aussieht. Ferner ist er relativ klein; sein Durchmesser entspricht kaum der halben Breite des Trypanosomenleibes an der Stelle seiner Lagerung, sodass er im Vergleich mit dem Blepharoplasten anderer Trypanosomen peripherer gelagert erscheint.

c. Der Hauptkern ist etwa in der Mitte des Trypanosomenkörpers oder noch weiter nach dem Hinterende zu gelagert, wärend er sich bei dem Rattentrypanosoma gewöhnlich im ersten Drittel befindet, sodas die relative Entfernung, der Abstand zwischen Haupt- und Nebenkern, beim Rattentrypanosoma viel grösser als beim Rindertrypanosoma ist.

Diese Eigentümlichkeiten sollten nach Frosch genügen um die beim Rind in Deutschland gefundene Trypanosomen als eine neue Art zu charakterisieren, welche er, nach dem Entdecker, als „Trypanosoma Franki" zu benennen vorschlägt.

Dr. PAUL KNUTH (13) hat belm Rinde im Kreise Oberwestwald mittels Züchtung in Blut-Bouillon Trypanosomen nachgewiesen,

Nachdem es Martini in Manilla und Crawley in Nord-amerika

gelungen war, aus dem Blute anscheinend ganz gesunder Rinder durch Züchtung in Blut-Bouillon Trypanosomen nachzuweisen, die bei späterer Verimpfung an empfänglichen Rindern sich als infektiös erwiesen, schien es erwünscht, diese Methode des kulturellen Nachweises von Trypanosomen, die eventuell im Rinderblute für die mikroskopische Untersuchung zu spärlich vorhanden sind, auch im Kreise Oberwestwald zu versuchen.

Bekanntlich sind im Sommer 1908 und zwar an Material das Dr. MORGENSTERN von einem in dem Orte Stein-Wingert gefallenen Ochsen entnommen hatte, durch Herrn Prof. FRANK in Wiesbaden Trypanosomen nachgewiesen worden. Alle spätere Bemühungen dagegen, durch Untersuchung von Blut und Organausstrichen verendeter Haus- und wildlebender Tiere, weitere Erkennungs- und Todesfälle, ihrer wahren Natur nach aufzudecken, sind bis heute negativ verlaufen.

Von RAUCHBAR und Dr. MORGENSTER wird in verschiedenen Ortschaften des Kreises Oberwesterwald die obenerwähnte Untersuchungsmethode zur Ausführung gebracht. Bevorzugt wurden hierbei solche Orte und Rinderbestände, in denen zurzeit oder früher infektiöse Erkrankungen vorgekommen waren, deren Natur sich aber nicht hatte aufklären lassen. Es wurden insgesamt 25 Rinder derart geprüft, dass ein kleines Quantum steril aus der Halsvene entnommenen und definibrierten Blutes zu steriler Rinderbouillon von gewöhnlicher Zusammensetzung gefügt wurde. In dieser Weise wurden mit Blutproben der 25 Rinder, 100 Röhrchen geimpft. Die geimpften Röhrchen wurden bei Zimmertemperatur, aber möglichst vor Licht geschützt, aufbewahrt. Bei der nach wenigen Tagen vorgenommen Untersuchung zeigte es sich, dass von den 25 Rindern nicht weniger als 7 mit Trypanosomen infiziert waren. Es fanden sich in den betreffenden Röhrchen zahlreiche Entwickelungsformen und Agglomerationen von Trypanosomen. Dr. KNUTH glaubt, dass die überraschende, nunmehr von ihm bestätigte Tatsache, mittels Züchtung in Blutbouillon latente Trypanosomenherde bei Rindern ausfindig machen zu können, nicht nur ein hohes wissenschaftliches Interesse beanspruchen darf, sondern auch für die praktische Tierseuchenbekämpfung nutzbar gemacht werden kann. Vor allem scheint ihm die Annahme begründet, dass latent an Trypanosomen leidende Rinder unter bestimmten Seuchen, z. B. auch Maul- und Klauen-

seuche u. s. w., viel heftiger leiden werden als Trypanosomenfreie Tiere. Vielleicht erklärt sich hierdurch die anscheinend höhere Virulenz einzelner Seuchengänge in bestimmten Gegenden. Dass obige Untersuchungsmethode auch bei anderen bisher nicht aufgeklärten Tierseuchen, z. B. Brustseuche der Pferde, Beschälseuche u. s. w. vielleicht wertvolle Aufschlüsse zeitigen kann, möge hier nur angedeutet werden.

Da aus der Litteratur bekannt ist, dass Trypanosomen vom Typus des Trypanosoma Theileri, zu denen auch das im Kreise Oberwesterwald gefundene Trypanosoma Franki gehört, sich entweder gar nicht oder nur sehr schwer im Blute der kleinen Versuchstiere des Laboratoriums zur Vermehrung bringen lassen, dagegen sehr leicht im Blute von Rinderen und Kälbern, so haben sie an Ort und Stelle sofort Uebertragungsversuche eingeleitet, die später im Hygienischen Institut der Tierärztlichen Hochschule zu Berlin weiter geführt werden sollen. Vielleicht würde es dann auch gelingen, die Frage nach dem Ueberträger und der Herkunft der Deutchen Rindertrypanosomen (Fliegen, Mücken, Zecken, Flöhe, Läuse) zu bearbeiten.

Später hat Dr. Paul Knuth (14) das Blut von 16 Milchkühen, einem Zuchtbullen, einem Kalb von 6 Tage und einem von 2 Tage alt vom Rindviehbestande der Ambulatorischen Klinik in Berlin, Tieren von versehiedener Rasse, mittelst der Blut-Bouillon Methode auf das Vorhandensein von Trypanosomen geprüft.

Die Prüfung ergab, dass von den 17 erwachsenen Tieren 10 mit Trypanosomen infiziert, wärend die übrigen und die Kälber frei davon waren.

Trotz der hierdurch anscheinend zahlenmässig sehr starken, mikroskopisch aber nicht ohne weiteres nachweisbaren Infektion der Deutschen Rinderbestände, hält er es für möglich dass bei bisher nicht aufgeklärten Erkrankungen der Rinder Trypanosomen zu gewissen Zeiten in groszer Zahl in der Blutbahn vorhanden, auch färberisch nachweisbar sind und bestimmte Krankheitserscheinungen hervorrufen können.

Eine zweite von Knuth geprüfte Reihe von 7 Versuchsrin-

dern der Tropenabteilung und 2 Rindern des Hygienischen Institutes zeigte, dass hiervon 6 Rindern mit Trypanosomen infiziert, und 3 frei davon waren.

KNUTH meint annehmen zu durfen dass allem Anscheine nach, die Trypanosomen eine sehr grosse Verbreitung in Deutschland besitzen.

PAUL BEHN ([15]) hat bei der Kuh „Nachtigall" die zu den 7 Versuchsrindern der Tropenabteilung gehorte, bei denen, Knuth, Rachbar und Morgenstern das Auftreten von Trypanosomen in Blut-bouillonkulturen zuerst nachgewiesen haben, weitere Untersuchungen gemacht.

Bei dieser gelang, ebenso wie bei vielen andern Rindern vom Gelände der Tierärztlichen Hochschule, der kultureile Nachweis der Trypanosomen-Infection von Anfang Juli bis Ende August stets und leicht.

Von Anfang September an liessen sich jedoch bei der Kuh „Nachtigall" ebenso wie bei mehreren anderen, dem Institut zur Verfügung stehenden Rindern Trypanosomen in Blutbouillon nicht mehr nachweisen. Trotsdem vom Ende August an, als das Seltenerwerden der Trypanosomen in den Kulturen auffiel bis zum 11 September täglich, von der an jeden dritten Tag Bouillonkulturen mit Blut der Kuh „Nachtigall" beschickt wurden und die Untersuchungstechnik immer genau dieselbe blieb, ergab sich kein positives Resultat mehr.

Martini hat auf den Philippinen-Inseln im Blute von Rindern, bei denen er kulturell Trypanosomen nachweisen konnte, weder durch Ausstriche noch durch die Untersuchnung der Zentrifugaloberfläche Trypanosomen nachzuweisen vermocht. Auch Crawley in Nordamerika hatte darin keinen Erfolg. Dieser Autor kam vielmehr zu der Ansicht, dass die in den Kulturen auftretenden Trypanosomen in ganz anderer Form im Blute der betreffenden Rindern vorhanden sein müssten.

Wärend die bisher zum Nachweise von Trypanosomen im Blute sowohl in Marienberg, als auch in Berlin von Knuth und Rauchbar angestellten Versuche negativ verlaufen waren, fand Behn bei einem am 8 August 1910 aus dem Ohrvenenblut der Kuh

„Nachtigall" angefertigten Ausstriche ein auffällig grosses Trypanosoma. Der sehr breite, plumpe Körper des Trypanosomas befand sich in gekrümmter Stellung und wies folgende Masse auf:

Vom Hinterende bis zur Mitte des Blepharoplastes . .	13 μ
Von der Mitte des Blepharoplastes bis zum hinteren Rand des Kerns	4 „
Kern in der Längsrichtung des Körpers	2 „
Vom vorderen Rand des Kerns bis zum vorderen Ende des Körpers	24 „
Länge des Protoplasmakörpers	43 „
Länge der freien Geissel	12 „
Gesämtlänge des Trypanosomas	55 „
Grösste Breite	12 „

Das Protoplasma des Trypanosoma ist bläulich gefärbt und zeigt neben hellen Stellen an denen sich wahrscheinlich Vakuolen befinden eine starke Granulation. Die Granula sind fast sämtlich gleich gross und haben eine rötlich bis bläulich violette Färbung. Vor dem Kern befinden sich mehr rötlich-violette Granula, hinter demselben mehr bläulich-violette. Um den Hauptkern herum ist die Granulation weniger stark, auch ist hier das Protoplasma etwas heller gefärbt. Auch in dem hinter dem Kern gelegenen Protoplasma fällt eine solche Stelle auf, in deren Mitte der schwarz-violett gefärbte Blepharoplast liegt. Der Hauptkern ist quer gestellt und blassrot gefärbt. In der Querrichtung füllt er die ganze Breite des Protoplasmaleibes aus, wärend er, in der Längsrichtung des Körpers gemessen, einen sehr geringen Durchmesser hat. Der Blepharoplast liegt hinter dem Hauptkern und zwar diesem näher als dem abgestumpften Hinterende. In seiner Nähe entspringt die undulierende Membran, die sich als roter Faden an derselben Seite bis kurz vor dem Vorderende entlang zieht. Hier liegt sie auf die andere Seite über und läuft dann in die ebenso gefärbte Geissel aus, deren genaue Länge leider nicht feststellbar ist, da das Ende derselben von einem roten Blutkörperchen verdeckt wird, Aus demselben Grunde kann man auch die Form der Geisselspitze nicht feststellen, die nebenbei bemerkt, bei fast sämtlichen aus den Versuchsrindern kulturell gewonnenen Trypanosomen in einem Knöpfchen endigt.

Dr. PAUL KNUTH ([16]) berichtet über die Untersuchungen von Trypanosomen folgendes:

Rauchbar und Paul Behn in Berlin haben 31 erwachsene Rindern, 7 Jungrinder und 3 Saugkälber auf Trypanosomen geprüft und gefunden, dass von ersteren 67.7 Proz., von den Jungrindern 14.6 Proz. und von den Saugkälbern kein Einziges mit Trypanosomen infiziert war. Zwei andere Kälber aus dem Elbmarschen wurden ebenfalls frei von Trypanosomen befunden. Das Fehlen der Trypanosomen infektion bei Kälbern ist für spätere Nachforschungen nach den Ueberträgern der Trypanosomen bei den Rindern beachtenswert. Vielleicht rührt dies daher, dass die vermuteten stechenden Insekten nicht im Stalle, sondern nur ausserhalb desselben vorhanden sind. Auch die von Knuth in September und October 1910 festgestellte Tatsache dass bei einer ganzen Reihe unserer Rindern der bisher stets leicht gelungene kulturelle Nachweis seit Beginn der kühleren Jahreszeit nicht mehr positiv ausfällt, könnte vielleicht dahin gedeutet werden, dass die vermeintlichen, die Trypanosomeninfektion vermittelnden Insekten um diese Jahreszeit verschwinden und somit keine Neuinfektion bewirken können. Andererseits sind aber Untersuchungen zur Entscheidung der Frage im Gange, ob dieses Verschwinden der Trypanosomen nicht vielmehr so zu deuten ist, dass die wärend des Sommers im Blute der Rinder vorhandenen Entwicklungsformen wärend der kühleren Jahreszeit nicht mehr zu Flagellaten auswachsen.

Welche Art von Insekten hierbei eine Rolle spielt, ist noch nicht ermittelt worden.

Rauchbar und Knuth haben bei Tabanus und Haematopota allerdings Flagellaten im Darm gefunden, die sie als Chritidien ansprechen. Knuth meint auch dass Hippobosciden in Betracht kommen. Für die weitere Erforschung dieser Frage wäre neben anderem auch die Feststellung von grossem Werte, ob sich das Verbreitungsgebiet dieser Fliege in Deutschland mit dem Vorhandensein von Rindern deckt, in denen Trypanosomen kulturell nachgewiesen werden können.

Das Auffinden eines einzelnen Trypanosomas im Blute der Westerwälder Kuh „Nachtigall" ist in Paralele zu stellen mit dem Befunde Webers aus dem Anfange der neunziger Jahre bei einer aus Schneidemühl stammenden Kuh, gelegentlich seiner mit Kossel,

Schütz und Miessner unternommenen Studien über die Hämoglobinurie der Rinder in Deutschland. Ebenso wie damals ist auch im Falle der Kuh „Nachtigall" das aufgefundene Trypanosoma nur ein nebensächlicher Befund gewesen, soweit die Gesundheit der Kuh in Frage kommt.

Im Gegensatz hierzu nimmt Knuth an, dass das massenhafte Auftreten von Trypanosomen im Blute des in Stein-Wingert im Jahre 1909 gefallenen Ochsen, quoad vitam, kein nebensächlicher Befund war, sondern dass hier die Trypanosomen pathogene Eigenschaften besassen. Ueber die Ursache der starken Vermehrung der Trypanosomen ist allerdings zurzeit noch wenig bekannt. Bei Piroplasmose sind als Reizmittel bereits bekannt Rinderpest, Maul- und Klauenseuche, ungünstige Temperaturverhältnisse, grosse körperliche Anstrengung u. s. w.

Ueber die von Paul Behn gefundene grosse Trypanosoma spricht Knuth die Vermutung aus, dass es vielleicht eine besondere Entwickelungsform, vielleicht ein Gametozyt ist, der bei den Pathogenen Trypanosomen, nicht im kreisenden Blute erscheint. Mit dem von Jaffé, Felmer und anderen beschriebenen, hat die von Paul Behn gefundene Form nur wenig Aehnlichkeit. Insbesondere unterscheiden sich die rot und rotblau gefärbten, ziemlich gleich grossen Granula, so sehr von den Granulationen anderer bei Säugetieren beobachteten Trypanosomen, dass Knuth diesen Befund als einen ganz besonders interessanten bezeichnen möchte.

Ausser Stockmann in England hat auch Peter in Fray-Bentos (Uruguay) Trypanosomen beim Rinde entdeckt, die morphologisch mit dem Trypanosome Franki übereinstimmen. Er vermochte auch mit denselben erwachsene Rinder zu infizieren, ohne dass dieselben erhebliche Krankheiterscheinungen zeigten.

Die gewonnene Erkentenis von der in den Deutschen Rindern anscheinend weit verbreiteten Trypanosomeninfektion sollte bei den Schutzimpfungen gegen die Hämoglobinurie der Rinder zur Vorsicht mahnen. Denn es wäre möglich, dass ein Teil der Misserfoge der Impfungen gegen das „Blutharnen der Rindern" dadurch bedingt ist, dass mit dem piroplasmenhaltigen Impfstoff auch gleichzeitig Trypanosomen verimpft werden. Gerade diese Mischinfektion könnte, nach Knuth, verderblich sein. Sollte dies nachgewiesen werden, dan müsste allerdings gefordert werden, dass in Zukunft nur solche Impfstoffe zur Verwendung gelangen,

die sich nach Prüfung mittelst der Blut-Bouillon-methode als Trypanosomenfrei erwiesen haben.

Sollten trotz dieser Vorsichtsmassregeln aber noch Trypanosomen im Blute der Impfinge auftreten, so könnte dies nur dadurch bedingt sein, dass die fiebererregende Eigenschaft des eingespritzten piroplasmahaltigen Blutes die im Körper der Impflinge bereits spärlich vorhandenen Trypanosomen zur Vermehrung gereizt haben.

Auch Dr. F. M. SCHMITT (17) hat einige Untersuchungen über das Vorkommen von Trypanosoma Theileri in Deutschen Rindern gemacht.

Schmitt infizierte eine Kuh, subkutan und intraperitoneal grossen Mengen Blutes, verschiedener Herkunft. Erstens mit solchen von einer Kuh die schwer und typisch an Blutharnen erkrankt war. Zweitens mit Blut von einen Bullen, dem subkutan Blut einer Kuh die an Blutharnen gelitten hatte, beigebracht worden war. Die Kuh blieb auf die schwere Infektion hin zunächst einige Tage gesund. Die Mastdarmtemperatur die vor der Infektion zwischen 38.4^0 und 38.9^0 C. geschwankt hatte, stieg dann nach einige Tagen wiederholt über 39^0 C.

Fünf Tage nach der Infektion wurden in den Blutausstrichen häufig Gebilde gefunden, die anscheinend in den Entwicklungskreis der Babesia bigemina (Piroplasma bigeminum) gehören.

Neun Tage nach der Infektion wurden die ersten Doppelbirnen gesehen, die dann mikroskopisch bis zum 21ten Tag nachgewiesen wurden; ring- und besonders punktartige Formen waren auch nachher noch in geringer Zahl da.

Fünfzehn Tage nach der Infektion stieg die Temperatur erstmals über 40° C. Am nächsten Tag war der Harn etwas dunkler als gewöhnlich, in den Blutausstrichen wurden ziemlich viele Entwicklungsformen der Babesia bigemina und ausserdem einige einwandfreie Trypanosomen vom Typus des Trypanosoma Theileri, zu dem auch das von Frosch „Trypanosama Franki" genannte Trypanosoma des Ochsen aus Stein-Wingert gehört. Das Blut selber war etwas dünn und ganz leicht lackfarben. Die Trypanosomen waren bis zum 25ten Tag in dem Blute sichtbar;

auf einem Objektträger konnten durchschnittlich zwei Stück gefunden werden.

Vom 18ten Tag an war die bekannte Tüpfelung der roten Blutkörperchen aufgetreten, jedoch nicht sehr hochgradig. Das Blut war aber rasch und in hohem Masse dünn und lackfarben geworden.

Vom nächsten Tage an wechselte die Temperatur zwischen 40.3° C. und 41.5° C.; 4 und 5 Tage nachher ging sie unter 41.2° C. nicht herunter, fiel dann aber vom folgenden Tage an wieder langsam.

Die klinischen Krankheitserscheinungen bestanden in der Zeit, zu der die Trypanosomen nachgewiesen wurden, in hohem Fieber und in sich rasch entwicklender, hochgradiger Anämie, zu der aber auch der chronische Verlauf der Piroplasmose und die zahlreichen Blutentnahmen beitrugen.

Die Kuh wurde getötet. Durch Färbnng von Ausstrichpräparaten aus Blut und Eingeweiden sowie durch Kulturversuche (Blutager nach Novy und Bouillon) konnten die Trypanosomen nicht nachgewiesen werden.

Schmitt infizierte ein 22 Monate altes Rind, dass gegen Babesia bigemina in sehr hohem Grade immun war, zweimal, in 5 Tagen Zwischenzeit, mit defibriniertem Blute von obengenanter Kuh. Das Rind erhielt erstmals 235 ccm. Blut intravenös und 200 ccm. subkutan, zweitmals etwa 430 ccm. in die Vene und 200 ccm. unter die Haut. Auf die erste Infektion kam keine Reaktion. Zwei Tage nach der zweiten Infektion stieg die Temperatur an, betrug am dritten Tag mittags, 41.7° C., war aber wieder nach 3 Tagen auf 39° C. gefallen. Mikroskopisch sowie kulturell konnte Smith weder Trypanosomen noch Babesia nachweisen.

Obengenannte Untersuchungen wurden im Monat Juli durchgeführt.

Schmitt meint aus vorbeschriebenem Fall und allem, was sonst bis zu jener Zeit aus Südafrika, Ostafrika, Indien, Transkaukasien, sowie aus Deutschland über die Trypanosomen vom Typus der Trypanosoma Theileri bekannt war, dass alles für relative Harmlosigkeit der betreffenden Parasiten spricht deren nähere Erforschung aber trotzdem nicht nur lediglich von wissenschaftlichem Werte sein dürfte.

PAUL BEHN ([18]) hat Untersuchungen angestellt über präflagellate Entwicklungsstadien der in Deutschen Rindern kulturell nachweisbaren Trypanosomen.

Rauchbar hatte gefunden dass in Blutbouillonröhrchen bei 20⁰ in dunklem Schranke, die mit einem Flagellum ausgestatteten Trypanosomen, meistens erst am vierten bis fünften Tage nach dem anlegen der Kultur, im hängenden Tropfen nachzuweisen sind. Bei der Untersuchung von gefärbten Ausstrichpräparaten aus den Kulturröhrchen hat P. Behn festgestellt, dass bereits am zweiten Tage mit einem Flagellum versehene Trypanosomen vorhanden sein können. Es war daher zu untersuchen, wie die Gebilde aussehen, aus denen frühestens am zweiten Tage die Flagellaten entstanden.

Knuth und Rachbar hatten schon bemerkt, dass die ersten mit Flagelli ausgestatteten Trypanosomen im hängenden Tropfen meistens am Rande von Häufchen von weissen Blutkörperchen auftreten. Dies liess vermuten, dass gerade diese Zellen irgendwelche Beziehungen zu dem Entstehen der Flagellaten haben könnten.

Bei sorgfältige Durchmusterung von Ausstrichen, die am ersten und zweiten Tage nach dem Anlegen der Kultur angefertigt und nach Giemsa gefärbt wurden, fand Behm runde Gebilde, die sich durch intensive Blaufärbung des oft alveolär gebauten Piroplasmas und einen oder mehrere nicht immer gleich grosse, runde Kerne von rosaroter bis roter Farbe kennzeichnen. Die Grösse schwankte, konnte aber fast die Grösse der Leukozyten erreichen. Diese Formen findet man teils frei, teils in weissen Blutkörperchen eingeschlossen. Letztere sprangen beim Wachsen und werden frei. Für diese Auffassung sprach der Umstand, dass sich bei fast jeder der freien Formen, die am zweiten Tage überwiegend auftraten, Reste von anhängenden zerflossenen Leukozyten fanden. Ob die in den weissen Blutkörperchen auftretenden Formen in durch Phagozytose in diese zellen hineingelangt waren oder ob

es sich hier ähnlich verhielt wie bei Haemoproteus, das in weissen Blutkörperchen Entwicklungsstadium durchmacht, blieb weiteren genauen Untersuchungen vorbehalten.

Paul Behn(19) hat ein Kalb infiziert mit Trypanosomen vom Typus des Trypanosoma Theileri mittelst Blut von Kühen, in denen nur kulturell Flagellaten nachweisbar waren.

In No. 42 B. T. W. Jahrgang 1910, hatte Behn in einer kurzen Abhandlung bereits ein Trypanosoma beschrieben, dass er in einem Ausstrich von Ohrvenenblut der Kuh, „Nachtigall" des Hygienischen Institut in Berlin gefunden hatte.

Da sich in derselben zurzeit der Anfertigung des Präparates, auch durch Anlegen von Blut-Bouillonkulturen Trypanosomen nachweisen liessen, musste trotz der starken Abweichung des gefundenen Bluttrypanosoma von den Kulturell gewonnenen Flagellaten — besonders was äussere Gestallt und Lagerung der Kerne anbetraf - ein Zusammenhang zwischen beiden Formen angenommen werden. Behn's weiteren Versuche liefen deshalb daraufhinaus, hierfür den positiven Beweis zu erbringen. Sie führten zu dem Resultat, dass es sich wirklich nur um Entwicklungsformen eines und desselben Trypanosomas handelte, das im nachstehenden näher beschrieben wird.

Behn und Rauchbar suchten festzustellen ob man mit Blut von Rindern bei denen mittelst Blut-Bouillonkulturen Trypanosomen zu finden waren, Kälber, die frei von mikroskopisch und Kulturell nachweisbaren Trypanosomen waren, infizieren könnte, entweder in der Art, dass die Kälber nunmehr auch Kulturtrypanosomen aufwiesen, oder dass sie mikroskopisch Bluttrypanosomen zeigten. Ferner suchten sie zu ergründen, welche Wirkung die Subkutane Injektion von Kulturtrypanosomen ausübe.

Diese Versuche, die zunächat bei je einem Saugkalbe ausgeführt wurden, verliefen völlig negativ. Es gelang ihnen damals in keinen Falle, sei es in Blutbouillonkulturen, sei es in Blutausstrichen, Trypanosomen bei den geimpften Tieren nachzuweisen.

Martini in Manila war es durch subkutane Injektion von Kulturtrypanosomen gelungen, solche später in angelegten Kulturen

der Impflingen nachzuweisen, Bei einfacher Blutüberimpfung war ihm dies allerdings ebenfalls nicht gelungen,

Danach entnahmen Behn und Rauchbar 4 Rindern, bei denen die Prüfung ungefähr 3 Wochen früher augelegten Blut-Bouillon kulturen Kulturtrypanosomen ergeben hatte, Blut aus der Jugularis, defibrierten es und injizierten von dem durch ein ausgekochtes Leinentuch filtrierten und mit 50 ccm. physiologischer Kochsalzlösung versetzten Blutgemisch 150 ccm. intravenös den 3½ Monate alten Kalbe, No. 1 der 2 obengenannten, dass schon zwei Monate früher zu einem gleichen Versuche benutzt worden war, damals jedoch kein positives Resultat ergeben hatte. Die jetzige Untersuchungen wurden aber im Beginn des Frühjares angestellt.

Wärend nun bei diesem Kalbe, bis zum Tage der Injektion Trypanosomen weder im Blute noch in den Kulturen gefunden wurden, traten bei demselben 11 Tage nach der intravenösen Injektion von 150 ccm. Blutgemisch, mikrokopisch nachweisbaren Trypanosomen in der Blutbahn auf, die 6 Tage sichtbar blieben Am 4ten Tage erreichte die zahl derselben den Höhepunkt. In den auf Objektträgern gemachten Ausstrichen waren durchschnittlich fünf Trypanosomen zu finden.

In den ersten Tagen des Auftretens zeigten sich überwiegend verhältnismässig kleine, schlanke Trypanosomen mit langer Geissel und stark gekrümmten Randfaden, die eine grosse Aehnlichkeit mit den von Frank in 1908 gefundenen Trypanosomen aufwiesen, wärend in den letzten Tagen in der Mehrzahl grosse und breite Trypanosomen auftraten, die sich am besten mit den von Theiler in Transvaal und Lingard in Indien gefundenen grossen Trypanosomen vergleichen liessen.

Die am 11ten Tage zuerst in der Blutbahn auftretenden Trypanosomen bewegten sich, im hängenden Tropfen beobachtet, vermöge ihres langen Flagellum und ihrer gut ausgebildeten undulierenden Menbran äusserst lebhaft, wobei jedoch keine grosse Ortsbewegung erfolgte. Mit Giemsalösung, zirka eine Stunde gefärbt, zeigten die schlanken Formen eine zeimlich intensive Färbung. Sie besaszen eine lange Geissel und hatten ein zugespitztes Hinterende, das meistens hakenförmig gekrümmt war. Der Hauptkern dieser Formen, der die ganze Breite des Trypanosomas auszufüllen pflegte, war entweder rund oder in der Längsachse ausgezogen, färbte sich rot und lag ungefähr in der Mitte zwischen Vorder- und

Hinterende. Der randständige Blepharoplast war zwischen Hauptkern und Hinterende und zwar dem letzteren etwas näher gelegen, dunkelviolett, bei starker Lichtquelle leuchtend rot gefärbt.

Die Undulierende Membran, die am Blepharoplasten ansetzte wies viele Windungen auf und lief in ein verhältnismässig langes Flaggellum aus. Der blau gefärbte Plasmaleib enthielt dunkele Granula von verschiedener Grösse. Die Länge dieser schlanken Formen war nicht konstant, sondern schwankte beträchtlich; wärend das kleinste Trypanosoma, das Behn bisher beobachten konnte, nur 22 µ lang war, mass das längste 66 µ.

Die Breite dieser Formen betrug 2 bis 3 µ.

Die gegen das Ende der Infektion auftretenden grossen, breiten Formen, die man zweckmässig vorläufig als Riesentrypanosomen bezeichnen konnte, färbten sich nicht so stark wie die schlanken Formen und erreichten eine Länge bis zu 70 µ, wobei die Breite 5 bis 6 µ betrug. Bei ihnen war der grosse, hell gefärbte Hauptkern meist quer zur Hauptachse des Körpers gestellt. Der auch hier randständige Blepharoplast lag ungefähr in der Mitte zwischen Hauptkern und Hinterende. Von ihm ging der rotgefärbte Randfaden aus, der nicht so stark gewunden war, wie es bei den schlanken Formen der Fall war. Ausserdem war das Flagellum kürzer. Alle diese Formen zeigten eine feine Granulierung, die sich über den ganzen Plasmaleib erstreckte.

In den mit Blut von demselben Kalb angelegten Bouillonkulturen konnten wärend der Zeit des Auftretens von Trypanosomen in der Blutbahn auch typische Kulturtrypanosomen nachgewiesen werden, die jedoch nicht wie sonst erst am fünften oder sechsten Tage, sondern schon am ersten Tage nach Anlegung der Kulturen auftraten.

Im Allgemeinen wurde von Behn noch bemerkt, dass im Gegensatz zu seiner positiven Feststellung von Kulturell nachweisbaren Trypanosomen wärend der Tage, an denen in der Blutbahn Trypanosomen mikroskopisch zu finden waren, Stockmann in Londen und Schmitt in Stettin angegeben haben, dass es ihnen nicht gelungen war, Kulturtrypanosomen nachzuweisen. Beide Autoren sahen nämlich nach Einspritzung von piroplasmenhaltigem Blute ausser Piroplasmen, bei einigen Impfingen auch Trypanosomen in der Blutbahn erscheinen, die ganz den Theilerschen Typus aufwiesen. Als Zeit des Auftretens die Trypa-

nosomen nach der Einspritzung, wurde von Stockmann der neunte Tag, von Schmitt der sechzehnte Tag angegeben.

Behn's Versuchen ergaben also folgendes:

1. Es gelang, bei einem Kalbe durch intravenöse Injektion von Blut aus 4 gesunden Rindern, bei denen kulturell Trypanosomen nachweisbar waren, typische Trypanosomen von zweierlei Formen in der Blutbahn zu erzeugen, von den zuerst hauptsächlich kleine, schlanke, sodann aber auch sehr grosse, breite Formen beobachtet wurden.
2. Wärend bei dem betreffenden Kalbe vor der Injektion des Blutes kulturell keine Trypanosomen nachweisbar waren, traten wärend der Anwesenheit der Trypanosomen in der Blutbahn in angelegten Blut-bouillonkulturen Kulturtrypanosomen auf.
3. Beide Beobachtungen sprachen dafür, dass die durch Züchtung in Blutbouillon nachweisbaren Trypanosomen, mit Bluttrypanosomen der oben beschriebenen beiden Formen in Zusammenhang standen.

Für Knuth scheint der Befund zweier morphologisch ausserordentlich verschiedener Formen von Trypanosomen beim obengenannten Kalbe ein weiterer Beweis für die von ihm bereits ausgesprochene Vermutung zu sein dass die von P. Behn gefundenen Riesentrypanosomen als Geschlechtsformen anzusehen sind.

Otto Peter ([20]) hat morphologische und experimentelle studien gemacht über ein neues, bei Rindern in Uruguay (Süd-Amerika) gefundenes Trypanosoma.

Verfasser konnte wärend seiner Tätigkeit im Dienste der Liebigs Fleisch-Extrakt-Komp., in Fray-Bentos (Uruguay) feststellen, dass auch in Südamerika bei Rindern Trypanosomen vorkommen. Bei 7 spontan infizierten Rindern aus den Provinzen Rio Negro, Paysandu und Salto waren die Trypanosomen äusserst spärlich, bei einigen Impfrindern etwas reichicher vorhanden. In mehreren Fällen bestand Mischinfektion mit Piroplasma bigeminum. Morphologisch gehören diese Südamerikanischen Rindertrypanosomen zum Typus des Trypanosoma Theileri und zwar zeigten sie die folgenden Charakteristika: Länge 30-65 μ; geisselfreies Ende spitz auslaufend;

Blepharoplast länglich oder rund, bald näher am Hinterende, bald näher am Kern gelegen; Kern ungefähr in der Mitte des Protoplasmakörpers gelagert, am häufigsten oval und etwas schräg in der Querrichtung des Körpers gestellt, oder rund; freier Teil des Flagellum bis 15 μ lang. Der Weg der natürlichen Uebertragung ist noch unbekannt. Die Impfversuche ergaben, dass die Uebertragung auf erwachsenen Rinder leicht, auf Kälber schwerer gelingt; dagegen liessen sich Pferde, Hunde, Schafe, Ziegen, Kaninchen, wilde Ratten, Meerschweinchen und weisse Mäuse nicht infizieren. Das Inkubationsstadium bei künstlicher Infektion betrug 9-16 Tage. Die Trypanosomen waren 10-12 Tage im Blute nachweisbar; das letztere blieb mindestens 11 Monate lang infektiös. Die pathogenen Eigenschaften sind noch nicht genügend geklärt, doch sprechen die beobachteten Entzündungen von Milz, Leber und Lymphdrüsen dafür, dass diese Trypanosomen für den Organismus nicht ohne Bedeutung waren.

Dr. PAUL KNUTH und PAUL BEHN ([21]) haben Untersuchungen gemacht über die Bedeutung der in deutschen Rindern vorkommenden Trypanasomen für die Impfungen gegen die Haemoglobinurie.

Wie in No. 50 der B. T. W, Jahrg. 1910 bereits näher ausgeführt worden ist, gelang es Knuth und Behn ein etwa 3 Monaten altes Kalb durch intervenöse Einspritzung von defibriniertem Blute von 4 ganz gesunde Rindern dergestellt, zu infizieren, dass bei dem Kalb etwa vom 11ten Tage an nach der Infektion eine grössere Anzahl Trypanosomen in der Blutbahn miskroskopisch nachgegewiesen werden konnten.

Etwa vom 17ten Tage an nach der Bluteinspritzung, verschwanden die Trypanosomen wieder völlig aus der peripheren Blutbahn. Es liessen sich Wochen und monatelang weder nach der Methode Ross-Koch in gefärbten, dicken Tropfenpräparat, noch im sogenannten hängenden Tropfen, noch durch zentrifugieren, noch durch Anlegen von Blutbouillonkulturen Trypanosomen nachweisen. Besonders der negative Ausfall der letzteren Prüfungsart kam unerwartet, da sie es bisher für sicher gehalten hatten, mit dieser Methode bei sörgfältiger Beobachtung der

erforderlichen Massregeln etwa im Rinde vorhandenen Trypanosomen stets nachweisen zu können.

Durch Versuche von Peter in Fray-Bentos (Uruguay) war es bekannt, dass Rinder, die einmal mit Trypanosomen vom Typus des Trypanosoma Theileri geimpft sind, trotz verschwinden der Trypanosoma aus der Blutbahn noch monatelang infektiös Blut besitzen. Spritzt man nämlich empfängliche Rindern solches Blut ein, so können bei diesen wieder Trypanosomen in der Blutbahn auftauchen.

Um zu untersuchen, ob es sich beim obengenannten Kalbe vielleicht ebenso verhielt, entnahmen sie demselben 100 ccm. Blut defibinierten, filtrierten, mischten dasselbe mit ca. 50 ccm. physiologischer Kochsalzlösung und injizierten das Gemisch einem ca. 6 Monate alten Kalbe in die Halsvene.

Wärend bei diesem Kalbe vor der Einspritzung auf keine Art und Weise Trypanosomen nachgewiesen werden konnten, erschienen bei demselben vom 8ten Tage ab, ziemlich zahlreiche Trypanosomen im zirkulierenden Blute und zwar wieder, was sehr beachtenswert ist, zunächst schlanke Formen und später auch die sogenannten Riesenformen.

Die Körpertemperatur von diesem Kalbe war leicht fieberhaft erhöht, wärend das erste Kalb fast gar kein Fieber hatte. Da auch beim 2ten Kalbe zahlreichere Trypanosomen in der Blutbahn vorhanden waren als beim ersten, hat dieser bei Knuth und Behn den Anschein erweckt, als ob die Trypanosomen der zweiten Kälberpassage schon etwas virulenter geworden waren, als in der ersten Passage.

Sie beabsichtigten deshalb, zunächst von Kalb zu Kalb weiter zu impfen, um diese Frage noch näher auf zu klären. Wenn sie vorläufig auch zu geben müssten, dass die Trypanosomen weder beim ersten noch beim zweiten Kalbe erhebliche Krankheitserscheinungen hervorgerufen hatten, so war doch die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, dass dies aus Gründen, die noch nicht übersehen werden konnten, gelegentlich der Fall sein konnte. Jedenfalls schien es ihnen aber nach deren neuesten Feststellungen bei beiden Kälber dass eine baldige Prüfung der Frage, in wieweit in der Praxis Trypanosomen durch die Haemoglobinurie Impfungen übertragen werden können, und in wieweit Trypanosomen Schuld

an den mit einzelnen Impfstoffen hervorgerufenen schweren Erkrankungen und Todesfälle sind, dringend geboten zu sein.

Zur Herstellung des Impfstoffes gegen die Hämoglobinurie der Rinder impft man in Deutschland (nach Behn) Kälber passagenweise mit Blut eines Hämoglobinuriekranken Rindes, entnimmt auf der Höhe der Infektion Blut von den Kälbern, defibriniert dasselbe und benutzt es als Impfstoff. Dasselbe was Knuth und Behn mit den zwei Kälbern getan haben.

Das tatsächlich mit dem Hämoglobinurie-Blut Trypanosomen weiter geimft werden können, hat bereits Schmitt (B. T. W. 1910, No. 44) in einem Falle beobachtet.

Es wird bei Passage-impfungen immer darauf Rücksicht zu nehmen sein, keine Kälber zu nehmen, die schon vorher mit Trypanosomen infiziert sein könnten. Den mit piroplasmenhaltigem Blute zu impfen Kälbern, soll man vorher Blut entnehmen und untersuchen und dann ein anderes Trypanesomenfreies Kalb impfen.

Dass der Impfstoff gegen die Hämoglobinurie der Rinder nicht in vielen Fällen, auch nicht an allen Orten (wo solcher von derselben Herkunft zur Anwendung gelangte), Trypanosomen in der Blutbahn der Impflinge, schwere Erkrankungen und Todesfälle herbei führt, kann daran liegen, dass an vielen Orten die Impflinge bereits durch frühere Infektionen mittels des natürlichen Ueberträgers (vielleicht Fliegen) bereits eine mehr oder weniger hohe Resistenz gegen diese Trypanosomenart erworben haben. Knuth und Behn sahen nämlich dass gleichzeitig entnommenes Blut vom ersten, dass bei das 6 Monate alten Kalbe nach 8 Tage Trypanosomen in der Blutbahn hervorgerufen hatte, diese Eigensehaft bei einem anderen erwachsenen Rinde nicht gezeigt hatte. Von diesem Rinde war es ihnen bekannt, dass es schon zuvor kulturell nachweisbare Trypanosomen enthielt.

SCHMITT ([22]) bezeichnet die Annahme von Knuth und Behn als irrig. Er sagt:

Aus dem Aufsatz Behn geht hervor dass die 4 Kühe, mit deren Blut das erste Kalb intravenös geimpft wurde, schon 2 Woche zuvor Trypanosomen oder Entwicklungsformen solcher im Blutte hatte, und das dieses Kalb auch früher schon mit Kultur-

trypanosomen sowie mit Blut von Rindern, die gleichfalls Trypanosomen oder Entwicklungsformen solcher beherbergt hatten infiziert worden war. Es ist weiter, was Knuth und Behn zugeben nicht einmal mit Sicherheit der Nachweis geführt, dass die 2 Kälber nicht bereits vor der künstlichen Infektion Trypanosomen im Blute gehabt haben. Das erste Kalb Knuth und Behn ist also zweimal infiiziert worden mit Blut von Rindern, welche latente Trypanose hatten und weiter mit aus solchen Rindern gezüchteten Kulturtrypanosomen. Bei der Herstellung des Impstoffes gegen die Hämoglobinurie der Rinder nimmt man (nach Schmitt) hingegen Rinder, die schwer an einwandsfreier Piroplosmosis erkrankt gewesen sind. Das ist ein grundsätzlicher Unterschied.

Unrichtig nennt er die Angabe Knuth und Behn, dass der Impfstoff gegen die Hämoglobinurie Blüt sei, dass den Kälbern auf der Höhe der Infektion entnommen werde; der Impfstoff wurde den Tieren geraume Zeit nach dem Ablauf der allenfalle klinisch erkennbaren milden Erkrankung entnommen.

A. Carini. (23) Trypanosomen im Blute gesunder Rinder in Brasilien.

Wie in verschiedenen anderen Ländern, auch in Deutschland im Blut scheinbar gesunder Rinder Trypanosomen durch Züchtung in Blutbouillon nachgewiesen werden konnten, so gelang der Nachweis auch in Brasilien. Die gefundenen Trypanosomen gleichen denen, die in anderen Ländern gefunden sind und gehören wahrscheinlich der Art Trypanosomen Theileri an. In jungen Kulturen findit man häufig runde Körper, mit einer langen Geissel. Die weiterzüchtung der Trypanosomen gelingt ziemlich leicht. Das Trypanosoma ist im Blute sehr spärlich vorhanden. Es gelang niemals dasselbe im Blutausstrich nachzuweisen.

Winkler und S. Wyschelessky (24) haben Studien gemacht über die Agglutination, Präzipitation und Komplimentbildung als Hilfsmittel zum Nachweis Trypanosomenkrankheiten, im besonderen der Be-

schälseuche, was auch von grosser Bedeuting sein kann bei der Untersuchung von nicht-pathogenen Trypanosomen.

Die Diagnose der Beschälseuche der Pferde begegnet, wie Zwick und Fischer in ihrer Arbeit über diese Krankheit ausfürlich dargelegt haben, of nicht geringen Schwierigkeiten, weil der mikroskopische Nachweis des Krankheitserregers nicht selten negativ ausfällt und bei latentem Verlaufe der Krankheit klinische Symptome vollständig vermisst werden.

Es hat deshalb nicht an Versuchen gefehlt, die Seradiagnostik für den Nachweis der verlaufenden Fälle dieser Infektionskrankheit nutzbar zu machen. So glauben Laveran und Mesnil in der Agglomeration einen Weg zum Nachweis der Krankheit gefunden zu haben. Aus den Untersuchungen von Zwick und Fischer sowie von Meissner ergab sich indessen, dass die Agglomeration als diagnostisches Hilfsmittel nicht in Frage kommen kann.

Einen nicht zu unterschätzenden Fortschritt bedeutete die gelegentlich der fünften Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie zu Dresden, von Lange bekannt gegebene „makroskopische Agglutination" bei Trypanosomen. Wie Zwick bei dieser Gelegenheid mitteilte, haben die im Veterinär-laboratorium des Kaiserlichen Gesundheitsamtes zum Nachweis der Beschälseuche angestellten Agglutinationsversuche, die von Lange gemachten Beobachtungen in vollem Umfang bestätigt. Die Frage, ob man berechtigt ist, den Vorgang als „Agglutination" zu bezeichnen, soll hier unerörtert bleiben.

Ihre weiteren Versuche verfolgten den Zweck, auch die Präzipitation und die Komplimentbindung für die Diagnostik der latent verlaufenden Fälle von Beschälseuche heranzuziehen.

1. Agglutination: Wie zuerst von Kanthack, Durham und Blandford, später von Laveran und Mesnill u. a. angegeben wurde, lassen sich die Trypanosomen aus dem Blute von maximalinfizierten Tieren dadurch gewinnen, dass das Blut zentrifugiert wird. Wärend des Zentrifugierens sammlen sich die spezifisch leichteren Trypanosomen in eines über den Blutkörperchen stehenden Serums, was mit einer Kapillare abgehoben werden kann und nach wiederholten (4-5 maligen) auswaschen mit physiologischer Kochsalzlösung schliesslich ein grauweisses,

vollständig reines Trypanosomenmaterial liefert. Aus diesem konzentrierten Trypanosomenmateriale stellen sie durch Hinzufügen von physiologischer Kochsalzlösung eine homogene, schwach milchigweiss getrübte Aufschwemmung her, die als Antigen zu den entsprechenden Verdünnungen der zu prüfende Sera tropfenweise (2-3 Tropfen) zugesetzt wurde.
Um die Agglutionation zu beschleunigen wurden die Uhlenhutschen Röhrchen ca. 2 Stunden lang bei 37° C. in den Brutofen gestellt. Nach dieser Zeit machte sich besonders in denjenigen Röhrchen, die Verdünningen von hochwertigen Seren bis etwa 1 : 1000 enthielten, deutliche Flockenbildung und Aufklärung der vorher trüben Flüssigkeit bemerkbar. Nach 4-6 Stunden konnte die Reaktionals beendet angesehen werden; im sämmtlichen Röhrchen mit spezifischen Serum beobachtet man alsdann einen lockeren, flockigen Bodensatz und darüber eine volkommen klare Flüssigkeit, wärend der Inhalt der Kontrolröhrchen (Antigen + Normalserum und Antigen + physiologische Kochsalzlösung) noch gleichmässig getrübt war oder höchstens beginnende Sedimentierung erkennen lies. Bei Zimmertemperatur spielte sich der Prozess, wenn auch langsamer, in derselben Weise ab. Die von 15 Beschälseuchen kranken Pferden stammenden Sera, die Sie zu prüfen Gelegenheit hatten, zeigten die Agglutination in Verdünnungen von 1 : 800 bis 1 : 20.000, die Mehrzahl agglutinierte bis 1 : 8—10.000. Dagegen lieferte unter den geprüften 50 Normalseren eine grosse Zahl (31) überhaupt keine Agglutination, andere (17) agglutinierten in eine Verdünnung von 1 : 20 und vereinzelte (2) in einer solchen von 1 : 50. Es trat also ein sehr deutlicher Unterschied in der Wirkung der Normal und der spezifischen Agglutinine in die Erscheinung.
Sie untersuchten fernerhin die Sera von 6 mit Trypanosomen (4 mit Beschälseuche-, 2 mit Naganatrypanosomen) infizierten Hunden, 2 mit Beschälseuche-trypanosomen infizierten Schafen und je 2 mit Beschälseuche- und Naganatrypanosomen geimpfte Kaninchen. Auch die Sera dieser Tiere agglutinierten in derselben Weise wie die spezifischen Pferdesera.
Spezifisch für Beschälseuche-Trypanosomen war die Reaktion nicht, denn hochwertige Beschalseuche-Pferdesera agglutinierten nicht nur Beschälseuche, sondern auch Dourine- und Naganatrypanosomen. Die von Zwick gemachte Mitteilung, dass hoch-

wertige Beschälseuche-sera die Naganatrypanosomen nicht in so hohem Grade agglutinierten, wie die der Beschälseuche, liess sich bei Winkler und Wyschelessky's weiteren Versuchen nicht mehr aufrecht erhalten. Sie konntem zwischen diesen beiden Trypanosomen-arten keine wesentliche Unterschiede feststellen.

2. Präzipitation. Dieses Serodiagnostisches Hilfsmittel ist zur Feststellung der Trypanosomen-krankheiten bisher nur wenig angewandt worden. Mayer setzte aufgeschwemmten, zentrifugierten Trypanosomen eines Hundes, etwas Trypsin zu und hielt diese Aufschwemmung — zusammen mit einer anderen ohne solchen Zusatz als Kontrolle — bei 37° C. Nach einigen Tage wurden beide Aufschwemmungen filtriert und mit dem Filtrat Präzipitatonsversuche angestellt.

Bei Verwendung von Trypanosomen-Trypsin-Extrakt + Tsetse-Hundeserum entstand je nach der Menge des zugesetzten Extraktes nach $^1/_2$—1 Stunde eine Trübung, nach 4 Stunden ein deutlicher bröckliger Niederschlag. Mayer schliesst aus diesem Versuche, dass sich wärend des Verlaufes der Tsetse-Krankheit bei einem Hunde, spezifische Präzipitine haben nachweisen lassen.

Zu den von Winkler und S. Wyshelessky angestellten Untersuchungen benutzten sie ebenso wie zu den Agglutinationsversuchen gut ausgewaschene Trypanosomen, die nach Hinzufügen von 10 bis 20 Teilen physiologischer Kochsalzlösung 1—3 Tagen lang zusammen mit Glasperlen im Schüttelapparat extrahiert wurden.

Die Präzipitation fand in Gestalt der Ringprobe (Schichtprobe) Anwendung. Notwendige Voraussetzung für das Gelingen der Reaktion war die Verwendung eines vollständig klaren Antigens und eines ebensolchen Serums. Das Antigen wurde von Ihnen in der Weise hergestellt dass sie das Kochsalzschüttelextrakt zunächst stark zentrifugierten und die überstehende Flüssigkeit durch eine Berkenfeldkerze filtrierten.

Die Keaktion wurde um so deutlicher, je frischer Serum und Antigen-extrakt war.

Geprüft wurden dieselben Sera, die zur Agglutination zur Ver-

fügung gestanden hatten, ausserdem noch einige Normal- Hunde Kaninchen- und Hammelsera.

Kurz zusammengefasst, war das Ergebniss dieser Untersuchungen folgendes:

Spezifische Sera gaben nach kurzer Zeit — oft schon wärend des Schichtens — spätestens aber nach 10 Minuten, einen scharf abgesetzten, grauweissen Ring zwischen den geschichteten Flüssigkeiten (Antigen und Serum). Sera von normalen Pferden lieferten mit dem Antigen zwar auch Ringe; diese traten aber erst später ein und waren viel schwächer und undeutlich, verschwommen. Auch Verdünnungen der spezifischen Sera mit physiologischer Kochsalzlösung im Verhältnis von 1:5 und 1:10 gaben mit dem Antigen nach etwa 1/4 Stunde noch einen - wenn auch schwächeren - Ring, der sich unter denselben Verhältnissen bei Normalseren niemals bildet. Sie sahen sogar einige Fälle, in denen spezifische, unverdünnte Sera mit dem Antigen nur undeutliche Ringbildung erkennen liessen, wärend sie in Verdünnungen von 1:10 deutlich war (siehe Tabelle No, 9—10.)

Da Beschälseuche-, Dourine- und Nagana-Trypanosomen-Extrakte mit den Seren von Beschälseuchenkranken Pferden die Reaktion der Ringbildung zeigen, so ist die Präzipitation nicht lediglich für die Beschälseuche Trypanosomen spezifisch.

3. Komplementbindung: Die mit dieser Methode schon angestellten Versuche, bei denen fast ausschliesslich Organ-Extrakte als Antigen Verwendung fanden, führten nicht zu einheitlichen und befriedigenden Ergebnissen. Ohne hier auf die Versuche im Einzelnen einzugehen, wird nur auf die Arbeiten von Landsteiner, Müller und Pötz, Levaditi und Yamanouchi, Hartogh und Yakineff, Schilling und Hösslein, Citron, Weber, Manteufel und Woitke, Zwick und Fischer hingewiesen.

Levaditi und Muttermilch benutzten zu ihren Komplementbindungsversuchen Aufschwemmungen von reinen Trypanosomenmaterial als Antigen. Sie stellten zunächst ein Antigen aus gut ausgewaschenen und alsdann getrockneten und gepulverten Trypanosomen her, die sie bei der Anstellung des Versuches in physiologischer Kochsalzlösung aufschwemmten und 1 Stunde lang bei 37° C. hielten. Die nach dem Zentrifugieren dieser Auf-

schwemmung erhaltene klare Flüssigkeit diente als Antigen. Später benutzten sie nicht mehr getrocknete und gepulverte, sondern frisch ausgewaschene und nach ihren Angaben noch lebende Trypanosomen in physiologischer Kochsalzlösung und erklärten das so hergestellte Antigen für vorteilhafter als das fruher verwandete.

Auf Grund ihrer Versuche, die sie mit Meerschweinchen-Seren anstellten, kamen Levaditi und Muttermilch zu dem Schluss, dass das Serum mit Trypanoseminfektion getöteter Meerschweinchen Antikörper enthält, die durch die Komplementbindungsmethode nachgewiesen werden können, und dass die Antikörper für das Genus Trypanosoma, nicht aber für die Spezies, die zur Vorbehandelung oder zur Infektion des Tieres gedient hat, spezifisch seien. Die Methode von Bordet und Gengou kann nach Levaditi und Muttermilch also nicht zur Differenzierung der verschiedenen Rassen und Varietäten der Trypanosomen untereinander verwendet werden; sie erlaubt vielmehr nur den Nachweis einer Trypanosomen-Infektion überhaupt.

Unabhängig von Levaditi und Muttermilch ist von Winkler und S. Wyscheiessky die Komplementbindung unter Benutzung eines aus reinen Trypanosomenmateriale bestehenden Antigens als Mittel zur Feststellung der Beschälseuche geprüft worden. Bei Anstellung der von ihnen ausgeführten Komplementbindungsversuche benutzten sie ein Antigen, das dem zur Präzipitation verwendeten sehr ähnlich war. Das geschüttelte Trypanosomen-extrakt (Verdünningen im Verhältnis von 1 : 10—20) kam als homogenes leicht getrübtes Extrakt zur Anwendung. Die geprüften 15 spezifischen Pferdesera gaben sämtlich eine Komplette und selbst in Mengen von 0.02 ccm. noch eine zum Teil starke Hemmung der Hämolyse, wärend dies unter den gleichen Versuchsverhältnissen bei 25 geprüften Normalpferden-seren nicht der Fall war. Einige der von ihnen benützten Antigene gaben in der Verdünnung von 1 : 10 noch eine vollständige Hemmung bei Verwendung von 0.02 ccm. der spezifischen Seren.

Das auf eine genaue Vorprüfung der zu den Versuchen erforderlichen einzelnen Komponenten und auf die Kontrollen bei der Bewertung der Ergebnisse des Hauptversuches besonderer wert gelegt wurde, soll nicht unerwähnt bleiben.

Ebenso wie bei der Agglutination und Präzipitation konnten

Winkler und Wyschelessky bei der Komplementbindung feststellen, dass eine Unterscheidung der einzelnen Trypanosomenarten nicht möglich war; denn die Extrakte von Dourine- und Naganatrypanosomen gaben die Komplementbindung mit Beschälseucheseren in die gleichen Weise wie die Extrakte von Beschälseuchetrypanosomen, eine Bestätigung also der auch von Levaditi und Muttermilch gemachten Beobachtungen. Unter den von Winkler und Wyschelessky geprüften 15 Pferdeseren, die von Beschälseuchekranken Tieren stammten, war ihnen von 10, von anderer Seite zur Verfügung gestellten, bei Vornahme der Prüfung die Spezifität nicht bekannt. Sie suchten zunächst mit Hilfe der Präzipitation, alsdann durch die Komplementbindung Aufschluss darüber zu gewinnen, welche von den 10 Seren von beschälseuchekranken Tieren, stammten.

Durch jede der drei serodiagnostischen Methoden konnten alle zehn Sera, als spezifisch ermittelt werden (Vergleiche Tabelle).

Bei einem Vergleiche der Untersuchungsergebnisse zeigte sich, dass die 3 Methoden fast parallel verliefen. Dieselbe Sera die mit Hilfe der Präzipitation einen weniger deutlichen Ring gaben, agglutinierten nicht in so hohen Verdünnungen oder setzten später mit dieser Reaktion ein und zeigten ebenso auch für die kleineren Dose des spezifischen Serums (0.1 und 0.02 ccm.) eine schwächere Hemmung der Hämolyse als die übrigen.

Durch die mitgeteilten Versuche halten Winkler und S. Wyschelessky es für erwiesen, dass die Agglutination, Präzipitation und Komplementbindung, obwohl es sich im Gruppenreaktionen für verschiedene Arten von Trypanosomeninfektionen handelt brachbare Hilfsmittel zur Feststellung latent verlaufender Beschälseucheinfektionen überall dort sind, wo die Beschälseuche die einzige in Betracht kommende Trypanosomeninfektion ist.

Geprüfte Sera. Beschälseuche Serum.	Agglutination bei Serumverdunnung bis.	PRÄZIPITATION RINGBILDUNG. Serum unverdünnt	PRÄZIPITATION RINGBILDUNG. Serum verdünnt	KOMPLEMENTBILDUNG Menge des Serums.	KOMPLEMENTBILDUNG Hemmung.
1	1 : 8.000	sofort	1 : 5 deutlich 1 : 10 schwach	0.2 ccm. 0.1 „ 0.02 „	Komplett f. Komplett stark
2	1 : 10.000	sofort	1 : 5 deutlich 1 : 10 deutlich	id.	Kompl., f. Kompl., stark.
3	1 : 10.000	sofort	1 : 5 deutlich 1 : 10 deutlich	id.	Kompl., stark, stark.
4	1 : 4.000	nach 5 Minuten	1 : 5 deutlich 1 : 10 deutlich	id.	Kompl., f. Kompl., stark.
5	1 : 2.000	id.	1 : 5 deutlich 1 : 10 schwach	id.	f. Kompl., stark, deutlich.
6	1 : 8.000	sofort	1 : 5 deutlich 1 : 10 deutlich	id.	id.
7	1 : 8.000	id.	1 : 5 deutlich 1 : 10 schwach	id.	Kompl., f. Kompl., stark.
8	1 : 10.000	id.	1 : 5 deutlich 1 : 10 deutlich	id.	Kompl., Kompl., f. Kompl.
9	1 : 800	nach c^a 10 Minuten schwach	1 : 5 deutlich 1 : 10 deutlich	id.	f. Kompl., deutlich, deutlich.
10	1 : 2000	nach 10 Minuten schwach	1 : 5 deutlich 1 : 10 deutlich	id.	f. Kompl., deutlich, deutlich.
Normalserum	—	—	—	—	—
100	negativ	nach c^a 45 Minuten	negativ	id.	Hämolyse
102	negativ	nach c^a 45 Minuten	negativ	id.	Hämolyse

Jean P. Cordamatis und Socrate Photonis (25) haben biologische und histologische Studien gemacht über Trypanosomen bei Rindern in Griechenland.

Sie haben ihre Untersuchungen im Mai 1911 angefangen mit Rindern am Schlachthof in Athen. Die Tiere kamen aus Thessaliën, von dem Festland von Griechenland, aus dem Peloponesis und von den Inseln des Aegäischen Meeres, und von Kreta.

Am 13 Mai entnahmen sie Blut von 2 Tieren der Insel Keos, nämlich von einer 3-jährigen Kuh und einem 1½-jährigen Ochsen und am 15ten desselben Monates von 13, männlichen und weiblichen 2 bis 5-jährigen Tieren, welche aus verschiedenen Gegenden Griechenlands stammten. Bei ihrer ersten Untersuchung des Blutes fanden sie bei 2 von den 15 Tieren Trypanosomen.

Ihre Experimente wurden in 3 Serien eingeteilt.

Bei der 1sten und 2ten Serie von Untersuchungen gebrauchten sie, für jedes der 10 Tiere getrennt, einem Kolben mit Glasperlen.

Das Blut wurde beim Schlachten des Tieres unmittelbar wärend des Ausfliessens möglichst steril aufgefangen. Zwei Stunden nach dem Defibrinieren wurde das Blut in Röhren mit gewöhnlicher Nährbouillon gemischt, in der Weise dass zu 3 ccm Blut, 10 ccm. Bouillon gebracht wurden. Die Kulturen wurden im Laboratorium bei einer Temperatur von 20° C. aufbewahrt.

Von der 1sten Serie wurden bei 50 % der Tiere Trypanosomen gefunden, von der 2ten Serie bei 62.5 %; bei den 5 Tieren der 3ten Serie wurden keine Trypanosomen gefunden, nach der Untersucher vermutlich wegen Verunreinigungen.

Nach ihrer Angabe begann die Entwickelung der Kulturen am 2ten Tag in der Form von weissen Punkten von verschiedener Form und Grösse. Die Anzahl der Koloniën, an der Oberfläche des präzipitierten Blute wechselte. In einem der Tuben, in dem die Entwickelung sehr stark war, hatte sich auf der Oberfläche des Blutes eine weisse Schicht gebildet. Die weisslichen Punkte waren jedoch nicht ausschlieslich Trypanosomen-Kolonien. Einige bestanden aus Haufen von Leucocyten mit Fibrin und einer kleinen zahl von Trypanosomen. Die Bouillon blieb in allen Röhren klar.

Die Kulturen waren am 6ten, 12ten und 15ten Tag nach der Impfung sehr reichlich. In der Folge begann die Degeneration,

indem die Bewegungen der Trypanosomen langsamer wurden, — und zwar bis zum 25ten Tag.

In 2 wärend der Impfung mit andern Mikroben infizierten Tuben wurden keine Trypanosomen angetroffen.

Mikroskopisch zeigten die Kulturtrypanosomen sich als kugelförmige, ovale, spindelförmige oder längliche Körperchen, oft in Spermatozoenform. Sie waren stark lichtbrechend, von verschiedenen Dimensionen, mit oder ohne Flaggellum und bewegten sich schnell vorwärts.

Die kleinsten waren so gross wie die Hälfte eines roten Blutkörperchens, die grössten 70 bis 80 μ lang, einschliesslich des Flagellum und 6 μ breit.

Meistens waren die Trypanosomen in Gruppen von 5, 10 oder mehr Individuen, jedoch nicht in Rosettenform gelagert. Bisweilen bedeckten sie durch ihre grosse Menge das ganze Gesichtsfeld, sodass es unmöglich war die einzelnen Punkte getrent zu sehen. In den 10 Tagen alten Kulturen kamen die kugelförmigen und ovalen Kulturen am meisten vor. Bei den jüngeren Formen fand man sie sowohl mit als ohne Flagellum.

Die Jugendbildungen ohne Flagellum waren Kugelförmig. Länge: die halbe Grösse eines roten Blutkörperchens; Protoplasma und Kern kompakt; letzterer ist oval, am Rande dicht beim Blepharoplast und nimmt 1/3 des ganzen Körperchens ein. Allmählich verlängerte sich dasselbe und wird birnförmig; der Kern verschiebt sich mehr nach der Mitte gegen das Centrosoma. Bei fortdauerndem Wachstum begann der Körper sich der Länge nach in zwei Teile zu spalten, welche Teilung beim Blepharoplasten anfing.

Jugendbildungen mit Flagellum.

Die ursprüngliche Form war gleichfalls kugelrund; Grösse: die eines halben roten Blutkörperchens, Protoplasma granuliert in der Nähe des Centrums, und der Kern kaum sichtbar. Der Blepharoplast befand sich ganz am Rande und hier entsprang ein Flagellum, welches bisweilen 5-mal die Länge des Körpers hatte.

Inzwischen befand sich der Kern am vordern Körperende des Trypanosomas und in der Nähe des Blepharoplasten; dann wurde das Trypanosoma birnförmig. Zuweilen befand sich der

Kern nicht am vordern Körperende des Trypanosomas und in der Nähe des Blepharoplasten; dann wurde das Trypanosoma birnformig. Zuweilen befand sich der Kern nicht am vordern Körperende, sondern mehr nach der Mitte hin und in einiger Entfernung vom Blepharoplast. Beim weitern Wachstum des Trypanosomas begann die Längsspaltung vom Centrosoma ab, und so weiter.

Die länglichen Formen hatten anfangs gleichfalls die Grösse eines roten Blutkörperchens. Das Protoplasma verlängerte sich allmählich nach beiden Seiten, wobei ein Ende abgestumpft und das andere zugespitzt war; letzteres endete in ein Flagellum. Beim Wachstum des Trypanosoma erfolgte wieder die gewöhnliche Längsspaltung in zwei Teile.

In einigen frischen Präparaten wurden einigemal Protoplasma-Auswüchse gesehen, bisweilen einen, seltener zwei, welche sich, ebenso wie die Geissel schnell hin und her bewegten.

In den Kulturen von 15 Tagen wurde folgendes wahrgenomen:

Eine grosse Anzahl, sowohl jüngere wie ältere Formen, zeigten viele dunkelviolette Chromatingranulationen beim Kern, wärend das Protoplasma, dicht daneben, dunkelblau gefärbt war.

In mehreren 14-tägigen Trypanosomen wurde um den Parisiten herum eine schleimartige Ausscheidung angetroffen, welche den Parasiten ganz oder teilweise einhüllte, und mit hellroten oder dunkelvioletten Tüpfeln versehen war.

Der grösste Teil der erwachsenen Trypanosomen war länglich; andere mit Kugelrundem Vorderende, und von der Grösse eines roten Blutkörperchens, wärend sich ein schwanzförmiger protoplasmahaltiger Auswuchs anschloss.

In allen Trypanosomen befand sich der Blepharoplast bei dem Kern, der meistens in der Mitte lag.

Ausnahmen von dieser Regel bildeten feine und längliche Trypanosomen von der Grösse eines Drittels eines roten Blutkörperchens mit abgetrenntem und ovalem Kern, von welchem das Blepharoplast eingermassen entfernt lag.

Doch wird häufig auch bei diesen Trypanosomen aus 14-tägigen Kulturen der Kern beim Blepharoplast gefunden. Ausserdem fehlte bei den meisten Trypanosomen die undulierende Membran oder war nur wenig entwickelt, und das Flagellum war mitunter an den Rand der eventuell anwesenden Membran oder ganz frei von derselben.

In den Kulturen von 17 Tagen erreichten die meisten Trypasomen eine Grösse von 10mal die eines roten Blutkörperchens.

In den 25-tägigen Kulturen waren die Bewegungen der Trypanosomen Träge oder hatten ganz aufgehört, und waren mehr oder weniger degeneriert.

Zur Färbung wendeten sie anfangs Giemsa-lösung an, erzielten dabei jedoch bei den Jugendbildungen keine Kernfärbung; daher benutzten sie die von ihnen geänderte Methode von Pezopoulos-Cardamatis, wobei die Jugendbildungen sich ganz deutlich färben.

Statt 10 gr. nahmen sie 12 gr. Eosin-Lösung und mischten die Flüssigkeit mittels einer Pipette, nach der Vermischung der 3 Lösungen brachten sie die Flüssigkeit tropfenweise auf das trockne Präparat, wobei sie vorsichtig mit der Pipette die Flüssigkeit aus der Tiefe heraufholten und das Präzipitat an der Oberfläche sorgfältig vermieden. Diese Flüssigkeit wurde über das ganze Feld des Präparates verbreitet. Nach einer Viertelstunde wurde die Lösung von dem Objektglase unter einem dünnen Wasserstrahl abgespült.

Trypanosomen bei Rindern in den Niederlanden.

WESTER [26] constatierte bei 3 von 8 von ihm untersuchten Kühen, an der Reichs-Tierarzneischule in Utrecht, Trypanosomen.

Wester brachte ± 2 ccm. defibrinirtes Rinderblut in ± 8 ccm. sterilisirte Rinderbouillon, welche bei Zimmertemperatur oder im Brutkasten bei 22° C, aufbewahrt wurde. Nach 5-14 Tagen wurde mittelst eines langen Platina-nadels ein wenig Blut unten aus dem Röhrchen entnommen und mikroskopisch untersucht (Immersion Oculair 1). Wenn das Blut infizirt war, sah man in nahezu jedem Präparat Massen lebendiger Trypanosomen von 30-80 μ Länge und 2-5 μ Breite.

Ungefärbt zeigten sie sich wie kleine Aale, in Keulenform, wie eine Blasen-Ephitelzelle oder wie ein Spermatozoïd, verschieden in Grösse und mehr oder weniger beweglich. Die abweichenden Formen wurden von Wester als Entwicklungs- oder Kulturformen betrachtet. Stets waren sie mit einem peitschenden Flagellum, wodurch sie gut zu erkennen waren, versehen.

Wester betrachtete die Trypanosoma als einen in der Regel unschädlichen Parasiten, hielt es jedoch nicht für unmöglich, dass unter Umständen, entweder durch grössere eigene Virulenz oder durch herabgesetzte Widerstandsfähigkeit des Rindes, der Parasit pathogen würde. Besonders bei anaemischen Kühen würde hiemit zu rechnen sein.

Eine der drei Trypanosomenhaltenden Kühen war einigermassen abgemagert, ohne jedoch Krankheitserscheinungen zu zeigen, ausser blassen Schleimhäuten. Die zwei anderen waren vollkommen gesund; alle drei hatten einen einigermassen niedrigen Haemoglobingehalt.

Dr. van den Akker und Dr. A. Vrijburg (27), constatirten in der Reichs-Serum-Anstalt in Rotterdam bei 40 % der erwachsenen Tiere Trypanosomen. Bei nur einem Rind von ungefähr 2 Jahren wurden mittelst der Culturmethode Trypanosomen nachgewiesen. Die übrigen Tiere von zwei Jahren oder jünger waren alle frei von Trypanosomen.

Auch bei einer Zahl von 15 Kühen aus der Umgegend von Meppel, wurden bei 40 ₀/⁰ der Tiere Trypanosomen vorgefunden.

Eine allfällige Pathogenität, betrachteten auch diese Forscher als nicht gross.

Die Länge der bei genannten Rindern angetroffenen Trypanosomen war 24—72 μ, die Briete 2½—5 μ. Der Blepharoplast lag nahe beim Kern, das Flagellum besass ein knopfförmiges Ende. Sie wurden für Trypanosoma-transvaliense gehalten, eine Variëtät der Trypanosoma Theileri.

Vrijburg fand, dass gewöhnliche alkalische Rinderbouillon mit defibriniertem Blut, einen guten Nährboden für diese Trypanosomen bildet, besonders im Verhältnis von 1:3 Bouillon + 1 defibriniertem Blut. Verwendbar ist ist auch 5:20 Bouillon + 1 defibrinirtes Blut oder 1 Bouillon + 10 defibrinirtes Blut. Weiter wachsen sie sehr gut in Condenzwasser von Blutagar (2 gewöhnliche Agar + 1 defibrinirtes Blut).

Es stellte sich heraus, dass zur Anlegung von Kulturen, ein Zusatz von Citras natricus (um das Gerinnen vor zu beugen) nicht erwünscht ist; in einigen der mit Citras natricus versehenen Röhrchen entwickelten sich keine Trypanosomen, wärend die Kontroll-röhrchen ohne C. N., alle Kulturen enthielten.

Dr. A. Vrijburg. Impfungen von Kälbern.

a. Mit Blutbouillonkulturen.

Zum impfen mit Blutbouillonkultur wurde nicht die ganze Menge Bouillon verwandt, sondern es wurde der grösste Teil der Bouillon abpipettirt und nur die untere Schicht mit dem Blut, für die Einspritzung gebraucht.

Kalb **No. 1.**, 6 Monate alt, wurde intrajugulär mit 10 ccm. Kultur (2e Passage in vitro, und seit 29 Tagen aus dem Rinderkörper) geimpft. Resultat negativ.

Dasselbe Kalb bekam einen Monat später intrajugulär 3 Röhrchen Kultur, = 40 ccm. (2e und 4e Passage in vitro, seit 53 Tagen aus dem Rinderkörper). Resultat negativ.

Dem Kalb **No. 2**, 7 Monate alt, wurden 50 ccm. Kultur, intrajugulär eingespritzt (2e Passage in vitro, 11 Tagen aus dem Rinderkörper). Negativ.

Dieses Tier bekam 24 Tage später intravenös 9 Röhrchen Kultur (wovon 2 Röhrchen, 1e Passage in vitro und 8 und 14 Tage aus dem Rinderkörper). Negativ.

Drei und zwanzig Tage nach der letzten Kulturimpfung wurde Kalb No. 2, intrajugulär, mit 35 ccm. trypanosomenhaltendem Blut von Kuh No. 37, durch direkte Transfusion geimpft.

Wieder 27 Tage später wurde dem Kalb No. 2, 500 ccm. trypanosomenhaltendes Blut von No. 37 intrajugulär eingespritzt. Auch nach keiner dieser beiden letzten Impfungen wurden Trypanosomen im Blut des Kalbes No. 2 gefunden, weder durch direkte Blutuntersuchung, noch durch die Kulturmethode.

Weil dieses Kalb bei früherer Untersuchung (vor den Kulturimpfungen), trypanosomenfrei war, konnte aus diesen Versuchen geschlossen werden, dass die Impfungen mit Blutbouillonkultur Immunität verursacht hatten, weil, wenn keine Immunität vorhanden gewesen wäre, Impfungen mit Trypanosomenhaltigem Blut ein positives Resultat würden gezeitigt haben.

b. Mit Trypanosomenhaltendem Blut.

Kalb **No. 3**, 6 Monate alt, wurde durch direkte Transfusion, intrajugulär eingespritzt mit 10 ccm. trypanosomenhaltendem Blut von No. 37; 9 Tage später waren, (dargetan durch die Kulturmethode) Trypanosomen vorhanden; das Resultat der Blutimpfung war hier also positiv. Direkte Blutuntersuchung fiel negativ aus.

Vor der Impfung war dieses Kalb natürlich, (durch die Kulturmethode) auf Trypanosomen untersucht und frei befunden worden.

Lebensdauer der Trypanosomen.

Im Brutkasten bei 22° C. blieben die Blutbouillonaulturen,

ohne Ueberimpfung, höchtens 63 Tage am Leben. Mit 4 Ueberimpfungen, (mit 7 bis 14 Tagen zwischenzeit), höchstens 74 Tage.

Wurde das Trypanosomenhaltende Blut in dem kleinen Glaskolben, im dem es aufgefangen und defibrinirt war, direct in den Brutkasten bei 22° C. gesetzt, dann blieben die Trypanosomen 6 Tage am Leben.

Bei 37° C. sind sie nach 8 Tagen in den kleinen Kolben schon abgestorben.

Aus dem Gelatine-Brutkasten, mit 22° C. Temperatur, in den Agar-Brutkasten mit 37° C. versetzt, sah man oft nach 1 oder 2 Tagen unbewegliche Parasiten, zwei Tage später wieder bewegliche. Die trypanosomen entwickelten sich bei 37° C. schneller, aber die Lebensdauer war kürzer. In einzelnen Fällen entstanden bei 37° C. keine Kulturen in Trypanosomenhaltendem Blutbouillon-röhrchen.

In trypanosomenhaltenden Blut-bouillon-röhrchen vom Anfang an auf Zimmertemperatur - 13 bis 17° C - gehalten, entwickelten sich keine Kulturen.

In defibrinirtem Blut, aufbewahrt in den kleinen 200 cc. fassenden kolbenförmigen Flaschen worin es aus der Ader aufgefangen und defibrinirt wurde und bei Zimmertemperatur - 13 bis 17° C. - im Tageslicht, blieben die Trypanosomen 19 Tage am Leben.

Wurde aus diesem Kolben ein weinig Blut abpipettirt und in einem sterilen Reagenzröhrchen aufbewahrt, so blieben die Parasiten 27 Tage entwicklungsfähig.

Dass die Trypanosomen bei den beiden letzten Proben noch am Leben waren, ging daraus hervor, dass sich im Brutkasten bei 22° C. nach wenigen Tagen, und nach Zufügung von gleichen Teilen Bouillon in den Röhrchen mit defibrinirtem Blut, wieder Parasiten entwickelten.

Im Eiskasten (bei 4-8° C.) blieben die Trypanosomen in defibrinirtem Blut in obengenannten Glaskolben, 18 Tage am Leben; wurde das Blut abpipettirt und in ein steriles Röhrchen verbracht, so starben die Trypanosomen erst nach 27 Tagen ab.

Impfung eines Pferdes.

Von einem Rind das seit längerer Zeit Trypanosomen im Blut aufwies, (No. 37), wurde durch direkte Transfusion 35 ccm.

Blut übergebracht in die Jugularis eines Pferdes. Nach 16 Tagen hatte dieses Pferd Trypanosomen im Blute, die durch die Kulturmethode nachgewiesen wurden. Elf Tage später waren sie schon nicht meht nachzuweisen.

Ziegen, Schafe und Meerschweinchen wurden ohne Erfolg geimpft.

Eigene Untersuchungen.

Wärend der Monate November und Dezember 1911, Januar und Februar 1912, wurde von mir eine Untersuchung nach dem Vorhandensien von Trypanosomen im Blute von 75 Rindern und 3 Kälbern an der Reichs-Serum-Anstalt in Rotterdam, vorgenommen. Diese Tiere hatte Herr Prof. Dr. J. Poels, gütigst zu meiner Verfügung gestellt.

Diese 75 Rinder, grösstenteils Ochsen, für einen kleinen Teil Kühe, waren meistenteils 2½ bis 4 Jahre alt, etliche älter, mit Ausnahme von 6 Stücken von der Insel Terschelling, die 1 bis 1¼ Jahr alt waren und 3 Kälbern von ungefähr 8 Monaten.

Der grösste Teil war auf dem Viehmarkt in Rotterdam angekauft, ausser 2 Kühen und den 6 jungen Ochsen, die resp. gradewegs von dem Inseln Urk und Terschelling herbeigeschafft wurden. Die erste Categorie Tiere stand vor dem Beginne der Untersuchung, meistenteils schon Monate lang, etliche sogar über 1½ Jahre fortwärend im Stalle der Reichs-Serum-Anstalt; die 8 Letztgenannten Tiere waren 1 Tag nach ihrer Ankunft untersucht worden.

Wärend der ganzen Untersuchung wurde so steril wie möglich gearbeitet, um Verunreinigung der Kulturen durch Bakterien vor-

zubeugen, die Entwickelung der Trypanosomen vielleicht nachteilig beeinflusst hatten.

Nach dem Anlegen des Aderlass-seils, wurde die Haut an der Stelle, wo die Canüle eingestekt werden sollte, rasirt, mit Jodtinctur desinfizirt, dann ein kleiner Hautschnitt gemacht und in der gleichen Weise desinfizirt. Der Hautschnitt wurde gemacht um das Einstecken der Cänüle in die Ader zu erleichtern; es wurde die Haut erst einige cm. auf die Seite gezogen, dann wurde neben dem Jugularis die Haut eingeschnitten; bei dem Loslassen nachher kam die Oeffnung gerade in die Mitte des Blutgefässes. Hierdurch wurde eine Verwundung der Ader vorgebeugt.

Die zu verwendende Canüle war zuvor, mit dem daran befestigten Caoutchouc-Röhrchen von etwa 3 dm. Länge und einem kurzen Glasröhrchen, in Filtritpapier gewickelt und sterilisiert; das Filtrirpapier wurde erst geöffnet im Augenblick, in dem die Canüle in den Jugularis eingestochen werden sollte. Beim Aderlass muss dafür gesorgt werden, dass das Glasröhrchen nicht durch Berührung mit der Haut oder der Hand verunreinigt wird, (was durch das Schaukeln bei Bewegungen des Tieres leicht stattfinden kann). Es ist bei Rindern notwendig den Kopf hoch an einem der Pfähle des Notstalles zu binden und den Hals gut zu strecken. Die Oeffnung der Canüle muss einen Durchmesser haben von mindestens 2 mm. damit Blutgerinnung und Verstopfung soviel möglich vermieden wird.

Das Blut wurde aufgefangen in gewöhnliche kleine Flaschen oder Kolben von ungefähr 200 Gramm, worin etwa 50 Porzelanperlen. Die Kolben sind den Flaschen vor zu ziehen, weil beim Schütteln das Blut nicht so leicht mit dem Wattepfropfen in Berührung kommt. Diese Glaskolben waren verschlossen mit einem Watteprop fen und einem Käppchen aus Filtrirpapier, sie wurden vorher sterilisiert, und erst geöffnet in dem Augenblick in dem das Blut aus der, in den Jugularis eingeführte Canüle strömte. Bei dem Auffangen des Blutes wurde, zur Vermeidung von Verunreinigung, das Glasröhrchen nur ein paar cM. tief in den Hals des Kolbes gebracht und Letzteres möglichst schräg gehalten, um das Hineinfallen von Keimen zu vermeiden.

Nach Fülling mit ungefähr 25 Gramm Blut, wurde der Kolbe sofort wieder mit einem Kork verschlossen. Dieser Kork war, in Filtrirpapier gewickelt, sterilisiert. (Es ist besser den gefüllten Kolben

mit einem Kork wie mit Watten zu schliessen, weil beim Transport nach dem Laboratorium das Blut durch Schütteln mit dem Wattebausch in Berührung kommt und Verunreinigung verursachen kann).

Der Kolbe wird hierauf mit Tintenstift datirt und mit der Nummer des Tieres bezeichnet, und dann wärend mindestens 10 Minuten ununterbrochen kräftig geschüttelt um Gerinnung vorzubeugen. Nach 10 Minuten ist das Blut ganz abgekühlt und das Dunkelrot hat sich in Hellrot verwandelt.

Von diesem defibrinirtem Blut wurde, mittelst einer gut sterilisirten Pipette 5 Gramm genommen und in einem Reagenzröhrchen, mit 10 ccm. gewöhnlicher alkalischer Rinderbouillon verbracht. Men muss bei dieser Mischung Sorge tragen, dass die Pipette beim aufsaugen des Blutes nich mehr warm ist, weil dadurch die eventuell vorhandenen Trypanosomen getötet werden könnten. Es ist daher empfehlenswert die zuerst aufgesogene Blutprobe nicht zu gebrauchen, sondern nur die folgenden 5 Gramm zur Beschikung zu verwenden.

Bei diesem Ueberimpfen ist es nötig, vor dem Einbringen der Pipette sowohl die Oeffnung des Glas-kolbes, als diejenige des Bouillonröhrchens einem Augenblick in der Flamme zu stirilisieren.

Nach dem Verschliessen des Blut-Bouillonröhrchens mittelst des Wattenfropfens, wird dieses, versehen mit dem gleichen Datum und der Nummer des Rindes, in dem Brutkasten gesetzt bei 22^{0} C.

Für jedes Rind wird einen besonderen Kolben in Gebrauch genommen und mit dem darin vorhandenen defibrinirten Blut, eine oder zwei Bouillonkulturen angelegt. Nach einigen Stunden senkt sich das Blut auf den Boden des Bouillon-röhrchens; die Bouillon wird nicht trübe.

Nach einigen Tagen bilden sich auf die Oberfläche der Blutschicht gelbweisse Pünkte, in der Grösse eines Stecknadelkopfes, die sich im Laufe der Zeit verbreitern.

Oft bildet sich eine dünne hellbraune Schicht an der Oberfläche des Blutes. Diese Pünktchen oder Schichten bestehen meistenteils aus Leucocyten und Fibrin: in verunreinigten Röhrchen bisweilen aus Schimmelkulturen. Die Trypanosomen befinden sich gewöhnlich in der obersten Schicht wärend sie im Präparat im Allgemeinen in der Nähe der Leucocyten, besonders innerhalb oder doch in der Nähe der Leucocyten-Häufchen zu finden sind.

Crawley fand in jungen Kulturen Häufchen, die sich blau färbten, welche jedoch aus Leucocyten mit einigen beigemischten Trypanosomen bestanden.

In einigen wenigen Blutbouillonröhrchen, in welchen ein Paar Tage nach dem Anlegen der Kultur, Hämolyse entstanden war und die nachher bei Zimmertemperatur und Tageslicht (kein directes Sonnenlicht), wärend ungefähr zwei Monate (63 Tage) aufbewahrt wurden, fand ich noch lebende Trypanosomen.

In einem Fall waren in Condenzwasser van Blutager (2 gewöhnliche Agar + 1 defibriniertes Blut) 113 Tagen nach dem Anlegen der Kultur, noch sehr viele Trypanosomen am Leben.

Bacteriënverunreinigung und Hämolyse verhindern in der Regel die Entwicklung der Trypanosomen nicht, beeinflussen jedoch besonders der erstere Vorgang, die Lebensdauer.

Blutuntersuchung.

Am 2ten oder 3ten Tag nach dem Anlegen der Kulter wurde mit der Blutuntersuchung begonnen. Mit einer langen, ausgeglühten jedoch abgekühlten Platinanadel wurde soviel möglich dicht unter der Oberfläche des Blutes ein Tropfen genommen, auf ein Objektglas gebracht und mit einem Deckglas zugedeckt, in der gleichen Weise wurden 2 oder 3 Bluttropfen nebeneinander auf demselben Objektglas deponiert. Die Blutpräparate wurden stets mit Oel-Immersion und Objectiv 4, bei 920 × Vergrösserung, ohne Condensor und mit kleiner Blende, untersucht.

In der gleichen Weise wurde jedes Blutbouillenröhrchen täglich untersucht, doch niemals habe ich vor dem 7ten Tag Trypanosomen vorgefunden.

Stockman, London, fand dieselben nicht vor dem 9ten Tag; Schmitt nach 15 Tagen, A. VRIJBURG ausnahmsweise nach 5 Tagen, vielfach nach 6 und stets nach 7-8 Tagen; Rauchbar nach 5 Tagen; Howard Crawley nach 3; Cardamitis und Photinos nach 6, 12 und 15 Tagen; Behn und Knuth fanden jedoch nach 2 Tagen und Miyajima nach 33 Stunden schon Entwicklungsformen und erwachsene Trypanosomen.

Von verschiedenen Tieren, bei welchen durch die Kulturmethode Trypanosomen nachgewiesen waren, wurden direkt vom Blut, Deckglaspräparate gemacht und untersucht, jedoch eben-

sowenig wie Crawley, Martini, Carini Vrijburg, und Knuth, konnte ich darin Parasiten finden, gewiss weil die Zahl der Trypanosomen ziemlich gering ist und nicht auf jedem Bluttropfen einen Parasiten kommt. Behn fand wohl Trypanosomen in frischem Blut aus der Ohrader der Kuh „Nachtigall". Für die Untersuchung im frischen Blut wurde ein kleines Quantum Blut gemischt mit einem gleichen Quantum einer 1 % Lösung von Natrium citricum in physiologischer Kochsalzlösung (wodurch die Blutgerinnung vorgebeugt wurde und event. anwesende Trypanosomen fast nicht geschadet werden).

Die Trypanosomen waren durch ihre Bewegungen deutlich in dem ungefärbten Präparat zu erkennen. Die meistens schlangenförmige Bewegung, mit dem Flagellum voraus, war ziemlich kräftig, sodass die Blutkörperchen zur Seite geschoben wurden. Die Bewegung ist jedoch viel langsamer als die der Trypanosoma Evansi der Surra.

Die Untersuchung im hängenden Tropfen ist nicht notwendig. Ausser für die morphologischen Untersuchungen wurden nur dann gefärbte Präparate untersucht, wenn in den ungefärbten keine Trypanosomen gesehen wurden. Nie habe ich Trypanosomen in gefärbten Präparaten vorgefunden, wenn die Untersuchung der ungefärbten negativ gewesen war; aber trotzdem ist die Untersuchung farbiger Präparate zu empfehlen. (Schnellfärbung nach Giemsa).

Resultat der Blutuntersuchung.

In den Sommermonaten Juni, Juli und August 1911 waren von Dr. A. Vrijburg 48 erwachsene Rinder von den 75 obenerwähnten, auf Trypanosomen untersucht, mit dem Erfolge, dass bei den Nummern 3, 5, 6, 7, 8, 13, 14, 18, 21, 22, 35, 37 und 42 also bei 13 oder cirka 27 % die Parasiten nachgewiesen werden konnten.

In den Wintermonaten 1911—1912 wurden diese 48 Tiere von mir wieder untersucht und bei 8 von den Obengenannten 13, nl. bei den Nummern 3, 5, 8, 13, 21, 35, 37 und 42 Trypanosomen gefunden, ausserdem aber bei No. 10, bei welchem im Sommer keine Trypanosomen vorgefunden worden waren.

Von den übrigen 27 Rindern waren 18 erwachsene Tiere, bei fünf davon, nl. Nrs, 33, 56, 63 und den 2 Kühen aus Urk, fand ich Trypanosomen, d. h. bei circa 27 %. Die jungen Ochsen von Terschelling und die drei jungen Kälber waren frei von

Parasiten. Von den 66 erwachsenen Rindern wurden also bei 14 Trypanosomen gefunden, d. h. bei gut 21 %.

Auch von A. Vrijburg wurden fast nie Trypanosomen bei Jungvieh angetroffen; Knuth fand sie auch nicht bei Säugekälbern.

Wie bekannt, besitzt der jugendliche Organismus eine erhöhte Widerstandsfähigkeit gegen Protozoëninfektionen. Kälber werden u. a. durch Infektion mit Babesia bigemina des Texasfiebers und von Theileria parva des afrikanischen Küstenfiebers der Rinder viel weniger krank.

Morphologisch stimmen die gefundenen Parasiten ganz überein mit T r y p a n o s o m a T r a n s v a l i e n s e, eine Varietät der Trypanosoma Theileri. In einem einzigen Deckglaspräparat von Blutbouillonkultur, wurden gewöhnlich 4 bis 10 vorgefunden, zuweilen, z. B. bei den Nos. 8 und 63 wurden Conglomerate von Trypanosomen angetroffen. Sie blieben in dem ungefärbten, nicht eingeschlossenen Blutpräparat einige wenige Tage am Leben, allmählig wurden aber die Bewegungen ruhiger, um endlich ganz aufzuhören.

Alle Rinder, bei denen Trypanosomen vorgefunden wurden, waren stets vollkommen gesund gewesen, sodass auch hier wieder als festgesetzt angenomen werden kann, dass diese Form als n i c h t p a t h o g e n f ü r R i n d e r zu betrachten ist.

K n u t h und B e h n fanden n u r i n d e n S o m m e r m o n a t e n Trypanosomen bei Rindern, jedoch bei den gleichen Tieren nicht in den darauffolgenden Wintermonaten. Knuth meinte, dass die Ursache dieser Erscheinung in einer Hemmung der Entwicklung gesucht werden müsse, in dem die im Winter vorhandenen Entwicklungsformen nicht zu Flagellaten auswachsen oder dadurch, dass die stechenden Insekten im Winter nicht im Stalle, sondern nur im Sommer im Freien vorkämen.

Keine von diesen beiden Hypothesen hat sich als richtig erwiesen. Von mir wurden Trypanosomen vorgefunden in den Wintermonaten und nicht viel weniger wie von A. Vrijburg in den Sommermonaten, ausserdem bei einem Rinde dass im Sommer trypanosomenfrei gewesen war, wärend alle Tiere, mit Ausnahme von 8 (die von den Inseln Urk und Terschelling kamen) schon längere Zeit vor der Untersuchung fortwärend im Stalle gestanden hatten.

Es ist daher anzunehmen, dass die R i n d e r, die K n u t h

untersuchte, im Winter wieder geheilt, also frei von Trypanosomen waren.

Quantitative Nachweis von Trypanosomen im Blute von gesunden Rindern.

Nachdem durch die Kulturmethode dargetan war, dass im Blute von verschiedenen Rindern Trypanosomen vorkamen, wurde eine Untersuchung angestellt nach dem quantitativen Vorkommen dieser Parasiten. Hierzu wurden die 12 positiven Nummern verwandt, nl.: 3, 5, 8, 10, 13, 21, 33, 35, 37, 42, 56, und 63; (die 2 Kühe aus Urk konnten zufällig mir nicht zur Verfügung gestellt werden.)

Von jedem der genannten 12 Rinder wurden neuerdings, in dem bereits beschriebenen Weise, ungefähr 25 ccm. Blut in einen kleinen Glaskolben aufgefangen und durch Schütteln defibrinirt. In jedes von 10 engen Reagenzröhrchen, von etwa ½ cm. Durchmesser, wurde ± 1 ccm. sterile Rinderbouillon getan und dann tropfenweise das Trypanosomenhaltende, defibrinirte Blut zugefügt, und zwar in das erste Röhrchen 1 Tropfen, in das zweite 2, in dritte 3. u.s.w., mittelst einer engen Pipette von ungefähr 1 ccm. Inhalt.

Auch hierbei wurde wieder so steril, wie nur möglich, gearbeitet.

Die Röhrchen wurden von 1 bis 10 nummerirt, versehen mit der Nummer des Rindes, dem das Blut entnommen war, und datirt.

Es ist empfehlenswert enge Röhrchen zu verwenden, weil sich darin eine hohe Bouillon-Säule über dem Blut befindet, sodass Letzteres einer schädlichen Einwirkung der Luft die in dem abgeschlossenen Röhrchen über der Bouillon sich befindet, entzogen ist. Die Trypanosomen leben im Blutplasma auch in einem an Sauerstoff sehr armen Medium, sodass der Sauerstoff der Luft möglicherweise nachteilig auf die Entwicklung der Trypanosomen einwirken würde.

Diese Blutbouillonkulturen wurden in einem Brutkasten gestellt bei 22° C. und erst am 7ten Tage untersucht. Wurden dann noch keine Trypanosomen bei miskroskopischer Untersuchung vorgefunden, dann wurden am 8ten und 9ten Tag abermals einige

Blutpräparate gemacht und untersucht. Von jedem der 12 Rinder wurden auf diese Weise 10 Röhrchen sorgfältig untersucht, und für jedes dieser Rinder bestimmen zu können auf wieviel Bluttropfen eine Trypanosoma vorhanden war.

Das Resultat war, dass sie gefunden wurden im Blute von:

No.	3.	in	dem	Röhrchen	mit 6	Tropfen
„	5.	„	„	„	„ 5	„
„	8.	„	„	„	„ 3	„
„	10.	„	„	„	„ 6	„
„	13.	„	„	„	„ 8	„
„	21.	„	„	„	„ 5	„
„	33.	„	„	„	„ 5	„
„	35.	„	„	„	„ 5	„
„	37.	„	„	„	„ 6	„
„	42.	„	„	„	„ 4	„
„	56.	„	„	„	„ 5	„
„	63.	„	„	„	„ 3	„

Bei den Nummern 8 und 63 wurden in den Röhrchen mit 3 Tropfen Blut schon Trypanosomen vorgefunden, welche Tatsache genau übereinstimmt mit dem Vorhandensein einer grossen Zahl Trypanosomen in den Blutbouillonkulturen bei den ersten Experimenten.

Hieraus erklärt sich auch der negative Erfolg der Untersuchung eines einzelnen, frischen Bluttropfens, sodass gewiss zu empfelen ist, bei Untersuchung von Rinderblut nach dem Vorhandensein von Trypanosoma transvaliense, stets Blutager- oder Blutbouillonkulturen anzulegen.

Einfluss der Abschwächung des Wirtes auf die Trypanosomen.

Schon längere Zeit war versucht worden, Kuh No. 37 in verschiedener Weise zu schwächen, den Körper weniger resistent gegen die Einwirkung der Trypanosomen zu machen, um festzustellen, ob, unter weniger günstigen Umständen, diese nichtpathogene Form, pathogen werden würde und z. B. Fieber oder andare Erkrankungserscheinungen hervorrufen würde. So wurde zuletzt einigemale, in Zwischenzeiten von 3 bis 4 Tagen, je 4 Liter

Blut entnommen. Alle Versuche nach dieser Richtung waren jedoch umsonst, keine einzige Erkrankungserscheinung wurde constatirt.

Impfung eines Kalbes.

Bei einem 8 Monaten alten Kalb, dass durch die Untersuchung mit der Kulturmethode frei von Trypanosomen befunden wurde, übertrug ich durch direkte Transfusion von Kuh No. 37, intrajugulär 250 ccm. Blut, jedoch mit negativem Erfolg. Trypanosomen wurden in den Blutbouillonkulturen nicht vorgefunden.

Die direkte Transfusion fand in der folgenden Weise statt:

No. 37 war in dem Notstall in der angegebenen Weise an einem der Pfähle festgebunden, mit hochgehobenem Kopf und gestrecktem Hals; das Kalb war an der Aussenseite an dem Notstall festgebunden. In den stark gespannten Jugularis von No. 37 wurde eine Canule gesteckt von ungefähr 2 mm. Durchmesser, an die ein $^3/_4$ M. langes Caoutchoucrohr von $^1/_2$ ccm. Durchmesser befestigt war. Am Ende dieses Rohres befand sich ein kleines Glasröhrchen, wieder verbunden mit einem Caoutchoucrohr von $^3/_4$ M. Länge.

In die Jularis des Kalbes wurde eine Canüle gesteckt von der gleichen Grösse wie der obenerwähnten. Sobald das Blut von No. 37 gut durch die Röhren strömte, wurde das freie Ende der Caoutchoucröhre verbunden mit der Canüle des Kalbes. Durch das Glasröhrchen konnte genau festgestellt werden ob das Blut regelmässig durchströme.

Die Canüle darf nicht zu eng sein, um Blutgerinnung und Verstopfung vorzubeugen; ist sie aber zu gross, dann würde es sich ereignen können, dass durch das kräftig hereinströmende Blut, beim Kalb Herz-klappenfehler entstünden.

Um zu erfahren wie viel Blut in einer bestimmten Zeit durch die Röhre strömt, war vorher ein halber Liter Blut in ein Messglas aufgefangen worden und die zeit bestimmt in der diese Menge ausfloss. Es stellte sich heraus, dass dies 4 Minuten gewährt hatte.

Das Kalb erfuhr keinen Nachteil von dieser Bluttransfusion. Es hat nur einige Stunden nach dem Ablauf der Transfusion dann und wann ein wenig gehustet, doch war die Temperatur nicht nennenswert erhöht. Am folgenden Morgen war bei ihm alles wieder normal.

LITERATUR.

1. **Dr. A. THEILER, Pretoria.** A new Trypanosoma and the Disease caused bij it. Journal of comparativ Pathology and Therapeutics. 1903. vol. 16 No. 3.

2. **M. A. LAVERAN, Paris.** Identification et essai de classifications des Trypanosomes des Mammifères. Annales de l'Institut Pasteur 1911, No. 7. p. 1.

3. **HOWARD CRAWLEY.** Trypanosoma americanum, new species. A Trypanosoma which appears in cultures made from the blood of american cattle. Bulletin 119 of the Bureau of animal Industry, United States Department of Agriculture 1909.

4. **S. STOCKMAN, Londen.** Preliminary note on a Trypanosoma of Britisch Cattle. Journal of comparativ Pathology and Therapeutics. Vol. XXIII.

5. **Dr. F. DOLFEJN.** Diekrankheitserregenden Trypanosomen, Ihre Bedeutung für Zoölogie, Medizin und Kolonialpolitik. Berliner Tierärztliche Wochenschrift 1908.

6. **SWELLENGREBEL.** La Volutine chez les Trypanosomes. Compte rendu de la Soc. de Biologie. 1908 vol. 64 No. 2.

7. **A. LINGARD.** Different species of Trypanosomata oberved in bovines in India. Journal of Tropical Veterinary sciences. Vol. 11 1907 No. 1.

8. **STALOWSKY.** Trypanosoma Theileri im südlichen Ostafrika. Archiv für Schiffs- und Tropenhygiene. 1908 Heft 1.

9. **K. J. WRUBLEWSKI.** Ein Trypanosoma des Wisent von Bielowesch. Centralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten. 1909 Band 48.

10. **MARTINI ERICH.** Die Entwicklung von einer Piroplasma und Trymanosoma in Rinder in künstliche Kulteren.

Philippine Journal of Science. Serie B. vol. 14. 1909.

11. Prof. Dr. G. FRANK. Ueber den Befund von Trypanosomen bei einem im Stein-Wingert (Westerwald, Regierungsbezirk Wiesbaden) verendeten Rinde.
Zeitschrift für Infektionskrankheiten, Parasitärekrankheiten und Hygiene, Band 5. 1908/1909.

12. P. FROSCH. Aetiologische Ermittlungen über das Trypanosoma Franki.
Zeitschrift für Infektionskrankheiten und Hygiene. Band 5 — 1908.

13. Dr. PAUL KNUTH. Nachweis von Trypanosomen beim Rind im Kreise Oberwesterwald, mittels Züchtung in Blut-Bouillon
Berliner Tierärztliche Wochenschrift 1910. No. 26.

14. Dr. PAUL KNUTH. Zum Vorkommen von Trypanosomen bei Rindern in Deutschland.
B. T. W. 1910. No. 31.

15. PAUL BEHN. Ueber Entwicklungsformen des Trypanosoma Franki. B. T. W. 1910. No. 48.

16. Dr. PAUL KNUTH. Ueber die in deutschen Rindern gefundenen Trypanosomen
B. T. W. 1910. No. 42.

17. Dr. F. SCHMITT. Zur Vorkommen von Trypanosomen vom Typus des Trypanosoma Theileri in deutschen Rindern
B. T. W. 1910. No. 44.

18. PAUL BEHN. Präflagellate Entwicklungsstadien der in deutschen Rindern kulturell nachweisbaren Trypanosomen.
B. T. W. 1910 No. 46,

19. PAUL BEHN. Infektion eines Kalbes mit Trypanosomen vom Typus des Trypanosoma Theileri, mittelst Blut von Kühen, in denen nur Kulturell Flagellaten nachweisbar waren.
B. T. W. 1910. No. 50.

20. OTTO PETER. Morphologische und experimentelle Studien über ein neues, bei Rindern in Uruguay (Südamerika) gefundenes Trypanosoma.

Archiv für Schiffs- und Tropenhygiene. 1910 Beiheft 6.

21. **Dr. PAUL KNUTH und PAUL BEHN.**
Bedeutung der in deutschen Rindern vorkommenden Trypanosomen für die Impfungen gegen die Hämoglobinurie.
B. T. W. 1911. No. 6.

22. **SCHMITT.** Trypanosomen und Babesien in deutschen Rindern.
B. T. W. 1911. No. 12.

23. **A. CARINI.** Trypanosomen im Blut gesunder Rinder in Brasilien. Bulletin de la Société de pathologie exotique. 1911. Vol. 8. Part. 4.

24. **WINKLER und S. WYSCHELESSKY.**
Die Agglutination, Präzipitation und Komplementbindung als Hilfsmittel zum Nachweis der Trypanosomenkrankheiten, im besonderen der Boschälseuche. B. T. W. 1911. No. 51.

25. **Dr. JEAN CARDAMATIS et Dr. SOCRATE PHOTINOS.**
Etude biologique et histologique sur les Trypanosomes chez les bovides de Grèce.
Centralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten. 1911.

26. **WESTER.** Trypanosomen bij onze koeien.
Tijdschrift voor veeartsenijkunde en veeteelt. 1911. Deel 38. Afl. 9.

27. **Dr. A. VRIJBURG.** Bloedprotozoën bij zoogdieren.
Tijdschr. voor Veeartsenijkunde 1911. 38. 22.